



مقاله های پژوهشی

- ۳۵ بررسی اثر آگونیست گیرنده ی آدنوزین نوع (BAY 60-6583) A2B بر القای آپوپتوز در رده ی سلولی سرطان کلیه ی انسان
 عبدالوهاب شفیعی، محمدرضا شریفی
- ۴۲ اثر داروی اطریفل اسطوخدوس (Triphala Lavender) به عنوان داروی مکمل در درمان کودکان مبتلا به اختلال نقص توجه / بیش فعالی
 فرشته شکیبایی، مهدی برهانی، مهدی کاکشانی، کیوان قدیمی
- ۴۹ بررسی عوامل مؤثر بر بقای زنان مبتلا به سرطان پستان با استفاده از مدل Bayesian Cox
 حسین فلاح زاده، مرتضی محمدزاده، ویدا پهلوانی، نیما پهلوانی
- ۵۶ بررسی غلظت های مختلف پلاسما غنی از پلاکت بر تمایز استنوبلاستی سلول های استرومای مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی
 مریم چراغزاده، علیرضا خیراله، هانا حنایی اهواز، حمید گله داری
- ۶۴ بررسی مقایسه ای تأثیر پیش گیرانه ی تجویز وریدی کتامین یا پاراستامول در کنترل درد بعد از عمل جراحی فتق دیسک بین مهره های کمری به روش بیهوشی نخاعی
 غلامرضا خلیلی، زهرا فرهادیه

Original Articles

- Evaluation of the Effects A2B Adenosine Receptor-Agonist (BAY 60-6583) in Induction of Apoptosis in ACHN Renal Cancer Cell Line 41
 Abdol-Vahab Shafiee, Mohammadreza Sharifi
- The Effect of Triphala Lavender Tablets on the Treatment of Children with Attention Deficit/Hyperactivity Disorder 48
 Fereshteh Shakibaei, Mahdi Borhani, Mehdi Kahkeshani, Keyvan Ghadimi
- A Study on the Prognostic Factors of Breast Cancer Survival Time Using Bayesian Cox Model 55
 Hossein Falahzadeh, Morteza Mohamadzadeh, Vida Pahlevani, Nima Pahlevani
- The Effect of Various Platelet-Rich Plasma Concentrations on Osteoblast Differentiation in Human Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells 63
 Maryam Cheraghzadeh, Alireza Kheirollah, Hana Hanaee-ahvaz, Hamid Galehdari
- A Comparative Study on the Effect of Preemptive Ketamine and Paracetamol in the Control of Postoperative Pain in Lumbar Disc Herniation Surgeries under Spinal Anesthesia 69
 Gholamreza Khalili, Zahra Farhadieh



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و ششم، شماره (۴۶۶)، هفته دوم فروردین ماه ۱۳۹۷

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 مریم راد احمدی

ناشر:

انتشارات وسنا (فرزندگان راندیش)
Email: farapublications@gmail.com
http://farapub.com

تلفن: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۳۵

دورنگار: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۸۲

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

Email: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مدیر اجرایی: علی مرادی مسؤول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۹۱ تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

Email: jims@med.mui.ac.ir

http://jims.mui.ac.ir

وب سایت مجله:

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 محمد رضا اخلاقی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر علی اخوان	استادیار، متخصص پرتودرمانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، فوق تخصص غدد، بیمارستان‌های دانشگاهی مرکز پزشکی کیولند، آمریکا
۵- دکتر احمد اسماعیل زاده	استاد، دکترای تخصصی تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- دکتر افسون امامی نائینی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۷- دکتر شاهین امامی	گروه بیوشیمی، بیمارستان سن آنتونیو، پاریس، فرانسه
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، فوق تخصص بیماری‌های ایمونولوژی و آلرژی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر فریبا ایرجی	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۱- دکتر کن باست	استاد، متخصص ابتکارات درمانی، دانشگاه بریتیش کلمبیا، کانادا
۱۲- دکتر رضا باقریان سرارودی	دانشیار، دکترای تخصصی روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- دکتر مجید برکتین	استاد، متخصص روانپزشکی، فلوشیپ نوروسایکیاتری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۴- دکتر فرزین پور فرزاد	دکترای تخصصی زیست شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند
۱۵- دکتر مسعود پورمقدس	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر احمد چیت‌ساز	استاد، متخصص مغز و اعصاب، فلوشیپ بیماری‌های حرکتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۷- دکتر علی حکمت نیا	استاد، متخصص رادیولوژی، فلوشیپ رادیولوژی مغز و اعصاب و کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۸- دکتر سید مرتضی حیدری	استاد، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۹- دکتر مجید خیراللهی	دانشیار، دکترای تخصصی ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر بهناز خانی	دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر مریم راداحمدی	استادیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۳- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۴- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۵- دکتر محمدرضا شریفی	استاد، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۶- دکتر منصور شعله‌ور	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۷- دکتر رسول صالحی	استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر مسیح صبوری	استاد، متخصص جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر محمدرضا صفوی	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۰- دکتر خسرو عادل‌لی	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۳۱- دکتر سعید عندلیب جورتانی	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لوئیس ویل، آمریکا
۳۲- دکتر زیبا فرج‌زادگان	استاد، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۳- دکتر رویا کلیشادی	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۵- دکتر عزیر گه‌ری	استاد، متخصص جراحی پلاستیک، دانشگاه بریتیش کلمبیا، کانادا
۳۶- دکتر پروین محزون‌ی	استاد، متخصص آسیب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۷- دکتر سید مهدی مدرس‌زاده	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۸- دکتر محمد مردانی	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۹- دکتر عطیه مغیثی	دانشیار، فوق تخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات دیابت و غدد داخلی مارینا، آمریکا
۴۰- دکتر مرجان منصوریان	استادیار، دکترای تخصصی اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۱- دکتر محمدرضا نوربخش	استاد، متخصص فیزیوتراپی، دانشگاه جورجیای شمالی، آمریکا
۴۲- دکتر مصطفی هاشمی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران



راهنمای نگارش و ارسال مقاله علمی - پژوهشی

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

هیأت تحریریه پس از دریافت مقالات اقدام به بررسی مقاله از لحاظ ساختاری و موضوعی می‌نماید و چنانچه مقاله در بررسی اولیه مورد تأیید باشد، برای داوری ارسال می‌شود. زمان فرایند داوری (از دریافت تا پذیرش یا رد نهایی آن) ۳ ماه و در صورت تقاضا جهت بررسی سریع‌تر با شرایط ذکر شده در راهنمای نویسندگان ۲۱ روز کاری (بجز روزهای تعطیل) می‌باشد. لازم به ذکر است داوری و انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است. لذا پس از انجام مراحل داوری و پذیرش مقاله و قبل از صدور نامه پذیرش، لازم است نویسندگان محترم فرایند مالی را تکمیل نمایند.

نحوه ارسال دست نوشته‌ها در سامانه

نویسندگان محترم پس از آماده سازی دست نوشته مطابق راهنمای نویسندگان، از طریق ثبت نام (Registration) در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی اصفهان به آدرس <http://jims.mui.ac.ir>، می‌توانند وارد صفحه شخصی خود شده و تمامی بخش‌ها را تکمیل و دست نوشته را ارسال نمایند.

توجه به نکات زیر در ارسال مقاله ضروری است:

- ارسال مقاله منحصراً از طریق ثبت نام در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی انجام می‌شود. لازم است فقط نویسنده مسئول اقدام به سابمیت مقاله نماید و مقالاتی که توسط سایر نویسندگان یا اشخاص دیگر سابمیت شوند مورد بررسی قرار نخواهند گرفت.

- نویسنده‌ای که برای بار دوم اقدام به ارسال مقاله اصلاح شده خود می‌نماید، حتماً باید از طریق صفحه شخصی قبلی خود اقدام نموده و به هیچ عنوان دوباره به عنوان کاربر جدید و با ایمیل جدید در سامانه ثبت نام نکند.

- وارد کردن اسامی تمامی نویسندگان در سامانه و در محل مربوط به وارد کردن اسامی نویسندگان مقاله، الزامی است.

- پس از ارسال مقاله، تغییر اسامی نویسندگان امکان‌پذیر نمی‌باشد.

- فایل‌هایی که نویسنده در مرحله اولیه ارسال می‌کند شامل: (۱) فایل Word دست نوشته (۲) فایل Word صفحه عنوان (۳) فرم تعهدنامه، (۴) فرم مشخصات کامل نویسندگان (Cover letter) است که به ترتیب بایستی آپلود گردند.

نکته: درج شماره تماس ضروری (تلفن همراه، تلفن ثابت و ایمیل) نویسنده مسئول در فایل مشخصات نویسندگان الزامی است.

- نویسندگان در قسمت ارسال فایل‌ها، با ارسال یک فایل تعهد نامه که به امضای همه نویسندگان رسیده است، حق انتشار مقاله را به مجله دانشکده پزشکی اصفهان واگذار می‌نمایند. در غیر این صورت مقاله در روند داوری قرار نخواهد گرفت.

- مقالات ارسالی باید دارای فایل مجزا (Cover letter) شامل یک نامه خطاب به سردبیر حاوی عنوان مقاله، اسم، آدرس و ایمیل نویسنده مسئول، اسامی و ایمیل سایر نویسندگان باشد. در این نامه بایستی به صراحت اعلام گردد که دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد.

- در مرحله دوم بعد از این که دست نوشته در ابتدا از نظر همراستایی با اهداف و تنظیم در چهار چوب مجله مورد ارزیابی اولیه قرار گرفت و تأییدیه دفتر مجله در خصوص قابل ارجاع بودن آن دست نوشته برای شروع فرایند داوری ارسال گردید، ضروری است ۵۰ درصد کل هزینه به منظور شروع فرآیند بررسی به عنوان

(Processing fee) بر اساس موارد ذکر شده در بخش هزینه انتشار راهنمای نویسندگان پرداخت گردد. این هزینه غیر قابل برگشت می‌باشد. سپس فایل

مربوط به تصویر اسکن شده فیش پرداختی فقط با نام نویسنده مسئول (همراه با درج شماره مقاله و نوع هزینه (هزینه بررسی یا هزینه پذیرش) از طریق سایت به دفتر مجله ارسال گردد. لازم به ذکر است تنظیم دست نوشته بر اساس فرمت مجله، و پرداخت وجه اولیه فقط جهت ارسال به داوران بوده و دال بر پذیرش آن نمی‌باشد.

باشد.

نحوه ارایه مقاله

از مؤلفان گرامی تقاضا می‌شود، در ارسال مقالات به نکات زیر توجه فرمایند:

- ارسال مقاله فقط از طریق سایت پذیرفته می‌شود.
- زبان رسمی مجله، فارسی است و مقالات فقط به زبان فارسی همراه با چکیده انگلیسی قابل پذیرش هستند.
- دست نوشته‌های به زبان‌های غیر از فارسی و ترجمه شده در این مجله منتشر نمی‌شود.
- مقالات باید پژوهشی و حاصل تحقیق نویسنده یا نویسندگان در زمینه علوم پزشکی (پایه و بالینی) و رشته‌های مرتبط بوده که پیش از این به انگلیسی یا فارسی در سایر مجلات منتشر نشده باشد و یا به طور همزمان به مجلات دیگر نیز ارسال نگردیده باشد.
- این مجله مقالات شامل انواع اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را در منتشر می‌نماید.
- فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین نیز توسط این مجله انتشار می‌یابد.
- مقالات قابل انتشار در مجله علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی اصفهان شامل موارد زیر می‌باشند.

الف- مقالات پژوهشی اصیل: مقالات علمی- پژوهشی با حداکثر حجم ۲۵۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مآخذ ۳۰ عدد می‌باشد.

ب- مقالات کوتاه پژوهشی: مقالات علمی کوتاه پژوهشی با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مآخذ ۱۵ عدد می‌باشد.

ج- مقالات مروری - مقالات مروری (Review Article) از نویسندگان مجرب و صاحب مقالات پژوهشی در زمینه مورد بحث پذیرفته خواهد شد. اصول کلی نگارش مشابه سایر مقاله‌های پژوهشی است. این نوع مقالات با حداکثر ۷۰۰۰ کلمه می‌باشند. در فهرست منابع حداقل ۶ مرجع مورد استفاده می‌بایستی متعلق به نویسنده باشد (با حداقل چهار مقاله از شش مقاله به عنوان نویسنده اول و یا نویسنده مسؤول). برای ارسال مقالات مروری ضروری است که حتماً از قبل با سردبیر مجله هماهنگی لازم صورت گرفته و سپس اقدام به ارسال دست نوشته نمایند در غیر اینصورت مجله از بررسی آن معذور است.

د- نامه به سردبیر- نامه به سردبیر می‌تواند به صورت ارایه مشاهدات علمی یا نقد یکی از مقالات چاپ شده در این مجله باشد و با بحثی کوتاه، همراه با درج فهرست منابع نگاشته شود. نامه به سردبیر با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مآخذ ۵ عدد می‌باشد. نقد مقاله برای نویسنده مسؤول مقاله مورد نقد، ارسال خواهد شد و همراه با پاسخ وی، در صورت تصویب شورای نویسندگان به چاپ خواهد رسید.

ه- تحقیقات کیفی- تحقیقات کیفی با حداکثر ۳۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مآخذ ۳۰ عدد می‌باشد.

ز- گزارش مورد- گزارش‌های موردی شامل گزارش موارد نادر یا جالب است و باید شامل چکیده، مقدمه، گزارش مورد، بحث، نتیجه‌گیری، سپاس‌گزاری و منابع باشد. گزارش مورد با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۵، سقف منابع و مآخذ ۱۵ عدد می‌باشد.

تبصره ۱- مقالات ترجمه پذیرفته نمی‌شود.

تبصره ۲- ارسال دست نوشته یا مدارک با فرمت PDF به هیچ عنوان پذیرفته نیست.

تبصره ۳- مقاله‌های کارآزمایی بالینی پیش از ارسال برای انتشار، بایستی در یکی از مراکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی مانند مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران IRCT به آدرس زیر ثبت شده و کد ثبت آنها به همراه مقاله ارسال شود: <http://www.irct.ir>

- مقالات ارسالی باید دارای بخش‌های ذیل باشند و به دست نوشته‌هایی که خارج از فرمت ذکر شده ارسال گردند ترتیب اثر داده نخواهد شد.

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

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

- دست نوشته باید شامل دو فایل: (۱) فایل Word صفحه عنوان (۲) فایل Word دست نوشته (به ترتیب دارای چکیده، مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع) باشد. تأکید می‌گردد از ارسال فایل‌های متعدد حاوی جداول، تصاویر و غیره خودداری شود.

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 و تقدیر و تشکر (شامل تشکر از افراد، شماره طرح پژوهشی و یا پایان نامه، ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی) باشد. ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

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

تبصره ۱- عنوان مقاله معرف محتوای مقاله باشد و از ۲۰ واژه تجاوز نکند.

تبصره ۲- با توجه به سیستم الکترونیک مجله، مقاله مستقیماً برای داور ارسال میگردد، لذا توجه شود که در فایل ورد پس از صفحه عنوان، مقاله فاقد اسامی نویسندگان باشد. در غیر این صورت تا اصلاح شدن فایل، ارسال مقاله برای داور متوقف می‌شود.

- چکیده: تمام مقالات اصلی باید دارای چکیده مقاله به دو زبان فارسی و انگلیسی با حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد. چکیده باید شامل بخش‌های مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث و واژگان کلیدی باشد. در پایان چکیده مقاله سه الی پنج کلمه کلیدی قرار می‌گیرد که بایستی تنها با استفاده از راهنمای MeSH از آدرس (<http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>) استخراج گردند. چکیده انگلیسی بایستی دقیقاً معادل چکیده فارسی باشد و شامل بخش‌های Keywords, Conclusion, Findings, Methods, Background باشد.

- 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.

- روش‌ها: این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط منع 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؛ شیوه تأمین روایی مشخص شود و توصیف دقیق فرآیند اجرایی برای رواسازی آن توضیح داده شود. چگونگی تعیین روش‌های مورد استفاده برای تأمین پایایی پرسش‌نامه و گزارش نتایج آزمون‌های آماری به کار گرفته شده جهت تأمین پایایی توضیح داده شود. در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

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

- 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.

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

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

تبصره ۱- اگر شکل یا جدولی از مرجع دیگری اخذ شده است، شماره مرجع در آخر عنوان جدول یا شکل نوشته شود و مشخصات مأخذ در بخش مراجع درج شود. -تقدیر و تشکر: در این بخش تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند مورد تقدیر قرار گیرند؛ از جمله کسانی که کمک‌های فنی، نوشتاری و مالی داده و همچنین سرپرستان و مدیران بخش‌های محل انجام مطالعه که در امر پشتیبانی‌های عمومی در اجرای تحقیق فعالیت داشته‌اند. همچنین ذکر نام سازمان(های) حمایت‌کننده یا تأمین‌کننده مالی پژوهش در این بخش ضروری است.

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

- تبصره ۱- ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست‌نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

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

-اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

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

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

- منابع به صورت پایان نامه

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

- منابع به صورت الکترونیکی - مجله الکترونیکی روی اینترنت

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان مقاله (.) نام اختصاری مجله الکترونیکی (فاصله) [online] (سال نشر (و ماه نشر در صورت لزوم) دوره (شماره) (:) [شماره صفحات یا قابها] (.) [روز، ماه و سال دسترسی] [cited] (:) Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال:

Mosharraf R, Hajian F. Occlusal morphology of the mandibular first and second premolars in Iranian adolescents. Inter J Dental Anthropol [Online] 2004; 5: [3 Screens] [cited 2006 Nov 13]; Available from: <http://www.jida.syllabapress.com/abstractsijda5.shtml>

منابع به صورت صفحه وب

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده [یا شرح پدیدآور] (.) عنوان (.) سال نشر در صورت دسترسی (:) [شماره صفحات یا قابها] [روز، ماه و سال دسترسی] [cited] (:) Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال:

Dentsply Co. BioPure (MTAD) Cleanser. [2 screens] [cited 2006 Nov 26]. Available from: www.store.tulsadental.com/catalog/biopure.html

- نمونه خوانی (**Proofreading**): یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤل

ارسال می گردد که لازم است در کوتاه ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وبسایت مجله ارسال نماید.

- اختصارات و نشانه ها: تنها از اختصارات و نشانه های استاندارد استفاده شود و از ذکر عبارات های مخفف در عنوان و خلاصه مقاله خودداری گردد.

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

- پس از انتشار، نسخه ای برای نویسنده مسؤل ارسال نخواهد شد و شماره های مجله از طریق سایت برای نویسندگان و خوانندگان قابل دسترسی می باشد.

- ملاحظات اخلاقی: این ملاحظات باید در بخش روش ها اشاره گردند. اخذ رضایت نامه از کلیه ی افراد بالغ شرکت کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأیید کننده ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.

- تداخل منافع (Conflict of Interest): نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه ها، سازمان ها، نهادها، شرکت ها و سایر منابع که انتشار یافته های مطالعه می تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

- ۳۵..... بررسی اثر آگونیست گیرنده‌ی آدنوزین نوع (A2B (BAY 60-6583 بر القای آپوپتوز در رده‌ی سلولی سرطان کلیه‌ی انسان.....
عبدالوهاب شفیعی، محمدرضا شریفی
- ۴۲..... اثر داروی اطرینفل اسطوخدوس (Triphala Lavender) به عنوان داروی مکمل در درمان کودکان مبتلا به اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی.....
فرشته شکیبایی، مهدی برهانی، مهدی کهکشانی، کیوان قدیمی
- ۴۹..... بررسی عوامل مؤثر بر بقای زنان مبتلا به سرطان پستان با استفاده از مدل Bayesian Cox.....
حسین فالاحزاده، مرتضی محمدزاده، ویدا پهلوانی، نیما پهلوانی
- ۵۶..... بررسی غلظت‌های مختلف پلاسمای غنی از پلاکت بر تمایز استئوبلاستی سلول‌های استرومای مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی.....
مریم چراغزاده، علیرضا خیراله، هانا حنایی اهواز، حمید گله‌داری
- ۶۴..... بررسی مقایسه‌ای تأثیر پیش‌گیرانه‌ی تجویز وریدی کتامین یا پاراستامول در کنترل درد بعد از عمل جراحی فتق دیسک بین مهره‌ای کمری به روش بیهوشی نخاعی.....
غلامرضا خلیلی، زهرا فرهادیه

بررسی اثر آگونیست گیرنده‌ی آدنوزین نوع A2B (BAY 60-6583) بر القای آپوپتوز در رده‌ی سلولی سرطان کلیه‌ی انسان

عبدالوهاب شفیعی^۱، محمدرضا شریفی^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: گیرنده‌ی آدنوزین نوع (A2B adenosine receptor یا A2bAR) از خانواده‌ی گیرنده‌های جفت شونده با پروتئین G می‌باشد که در غلظت‌های بالای آدنوزین که در شرایط ویژه‌ی پاتوفیزیولوژیکی اتفاق می‌افتد، فعال می‌شود. فعال شدن A2bAR در سلول‌های سرطانی، باعث توقف یا افزایش رشد می‌شود. مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی اثر آگونیست گیرنده‌ی A2bAR در القای آپوپتوز در رده‌ی سلولی ACHN کارسینومای کلیه انجام شد.

روش‌ها: رده‌ی سلولی کارسینومای کلیه جهت بررسی تأثیر آگونیست BAY 60-6583 بر القای آپوپتوز انتخاب شد. سلول‌ها در محیط کشتبا گلوکز بالای (DMEM) Dulbecco's Modified Eagle's Medium حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۱ درصد پنی‌سیلین-استرپتومایسین کشت داده شدند. برای بررسی درصد سلول‌های زنده و میزان آپوپتوز به ترتیب از روش‌های 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium bromide (MTT) و Annexin V/propidium iodide (Annexin V/PI) استفاده شد.

یافته‌ها: آزمون MTT نشان داد از بین نمونه‌هایی که با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار از آگونیست BAY 60-6583 تیمار شدند، حدود ۵۰ درصد بعد از ۴۸ ساعت زنده ماندند. همچنین، نتایج آزمون آپوپتوز نشان داد که غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار از آگونیست BAY 60-6583 بعد از ۴۸ ساعت باعث القای بیشترین آپوپتوز شدند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که BAY 60-6583 با تحریک گیرنده‌ی A2bAR باعث القای آپوپتوز در رده‌ی سلولی ACHN کارسینومای کلیه می‌شود. بنابراین، آگونیست گیرنده‌ی A2b می‌تواند به عنوان یک عامل جهت مهار سرطان استفاده شود.

واژگان کلیدی: آدنوزین، گیرنده‌ی آدنوزین A2B، BAY 60-6583، آپوپتوز، سرطان کلیه

ارجاع: شفیعی عبدالوهاب، شریفی محمدرضا. بررسی اثر آگونیست گیرنده‌ی آدنوزین نوع A2B (BAY 60-6583) بر القای آپوپتوز در رده‌ی سلولی

سرطان کلیه‌ی انسان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۶): ۴۱-۳۵

مقدمه

مناسب برای القای آپوپتوز و درمان سرطان شده است (۲-۳). آدنوزین از سلول‌های فعال از لحاظ متابولیسمی و از تغییر گیرنده‌ی متفاوت A1، A2A، A2B و A3 برای آدنوزین شناسایی و از لحاظ فارماکولوژیکی مشخص شده‌اند. این گیرنده‌ها، از دسته‌ی گلیکوپروتئین‌های گذرنده از غشا که به پروتئین G جفت می‌شوند، می‌باشند. گیرنده‌های A2A و A2B با فعالیت آدنیلات سیکلاز همراه می‌باشند و تحریک آن‌ها، سبب افزایش غلظت آدنوزین مونوفسفات حلقوی (Cyclic adenosine monophosphate یا cAMP) سلول

سرطان کلیه، یکی از سرطان‌های شایع به خصوص در کشورهای توسعه یافته می‌باشد. Renal cell carcinoma (RCC) تومورهای هستند که از سلول‌های اپیتلیال توبول‌های کلیه به وجود می‌آیند و بیش از ۹۰ درصد از تومورهای کلیه را به خود اختصاص می‌دهند. RCC در آمریکا هشتمین بدخیمی در میان سرطان‌های شایع را به خود اختصاص می‌دهد (۱).

در سال‌های اخیر، یافته‌هایی که در شناسایی مولکول‌های دخیل در سلول‌های سرطانی به دست آمده است، منجر به شناسایی داروهای

۱- گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: mo_sharifi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: محمدرضا شریفی

آدنوزین نوع A2B (BAY 60-6583) در القای آپوپتوز در رده سلولی ACHN کارسینومای کلیه انجام شد.

روش‌ها

کشت و تیمار سلول: رده سلولی کارسینومای کلیه (مرکز ذخایر ژنتیک و زیستی ایران، ایران) تهیه و در محیط کشت *Dulbecco's modified eagle medium (DMEM) (High glucose)* (بیویاده، ایران) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (Gibco, Germany) و ۱ درصد پنی سیلین - استرپتومایسین (بیویاده، ایران)، تحت شرایط دمای کنترل شده (۳۷ درجه سانتی گراد) و اتمسفر مرطوب حاوی *Carbon dioxide (CO₂)* ۵ درصد کشت داده شدند. آگونیست اختصاصی A2bAR (BAY 60-6583) (Tocris, UK) در ۱ میلی لیتر *Dimethyl sulfoxide (DMSO)* به حالت محلول تهیه شد. سلول‌ها در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه به تعداد ۱۰ هزار سلول در هر چاهک کشت داده شدند. آگونیست با غلظت‌های ۱، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار به چاهک‌ها اضافه شد. برای هر غلظت سه بار تکرار و سه چاهک به عنوان شاهد (بدون آگونیست، بدون DMSO و بدون آگونیست و با DMSO) در نظر گرفته شد. تیمار سلولی در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت انجام گرفت.

MTT (2,5-Diphenyltetrazolium bromide)-3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)

آزمون MTT، آزمونی کمی و رنگی است که اساس آن بر پایه‌ی احیای نمک زرد رنگ محلول در آب حاوی *3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium bromide* و تشکیل کریستال‌های آبی رنگ تیره و نامحلول فورمازان در آب می‌باشد. MTT، به وسیله‌ی آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی می‌باشد و تنها در سلول‌های زنده رخ می‌دهد. بلورهای فورمازان در حلال‌های آلی چون DMSO و ایزوپروپانول قابل حل می‌باشند که با سنجش میزان جذب نوری آن، می‌توان تعداد سلول‌های زنده را که فعالیت سوخت و سازی دارند، تعیین نمود.

پس از سپری شدن زمان مورد نظر برای هر تیمار به هر یک از چاهک‌ها، ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (sigma, USA) اضافه شد. سپس، با قرار دادن پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت در تاریکی، عمل انکوباسیون انجام شد. پس از سپری شدن مدت زمان لازم برای انکوباسیون، با دقت محتویات هر چاهک خالی و به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد. بعد از گذشت ۱۵ دقیقه، چاهک‌ها توسط دستگاه *Enzyme-linked immunosorbent assay reader (ELISA reader)* در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شدند. توان زیستی سلول‌های تیمار شده با BAY 60-6583 به شکل نسبت درصد جذب نوری نمونه‌ی

می‌شود. در حالی که تحریک A1 و A3 سبب کاهش cAMP و افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی از طریق جفت شدن با فسفولیپاز C (Phospholipase C یا PLC) می‌شود. آدنوزین، دارای اثرات گسترده و چندگانه‌ای می‌باشد که عملکرد آن به نوع و میزان بیان گیرنده بستگی دارد (۳-۴).

آدنوزین نه تنها به عنوان یک تنظیم کننده‌ی رشد و مهاجرت سلولی عمل می‌کند، بلکه عملکردهای پیچیده‌تری مانند نقش نوروترانسمیتری، تنظیم کننده‌ی پاسخ ایمنی و انقباض عروق را نیز بر عهده دارد. به این علت که سیگنال‌های مربوط به آدنوزین به طور قوی در ارتباط با حفظ انرژی سلول می‌باشند و از آن جایی که رشد تومور باعث تغییر در متابولیسم سلول می‌شود، توجه ارتباط اثر آدنوزین با سلول‌های سرطانی منطقی است (۴).

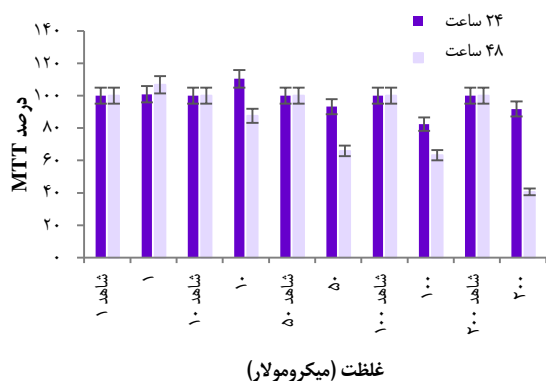
به تازگی، گیرنده‌های جفت شونده به پروتئین G به عنوان اهداف دارویی برای درمان سرطان اهمیت پیدا کرده‌اند و (A2B adenosine receptor) یکی از انواع گیرنده‌های جفت شونده به پروتئین G است که در برخی از انواع سرطان‌ها، به شکل قابل ملاحظه‌ای افزایش بیان پیدا می‌کند (۵).

A2bAR بر خلاف سایر گیرنده‌های آدنوزین به غلظت‌های بالاتری از آدنوزین برای فعال شدن نیاز دارد که این امر با قرار گرفتن در شرایط خاص پاتوفیزیولوژیک مانند ایسکمی و تومورها که به طور معمول هیپوکسی در آن‌ها مشاهده می‌شود، اتفاق می‌افتد (۶).

در مطالعه‌ی حاضر، نقش گیرنده‌ی A2BAR در القای آپوپتوز در رده سلولی سرطان کلیه مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

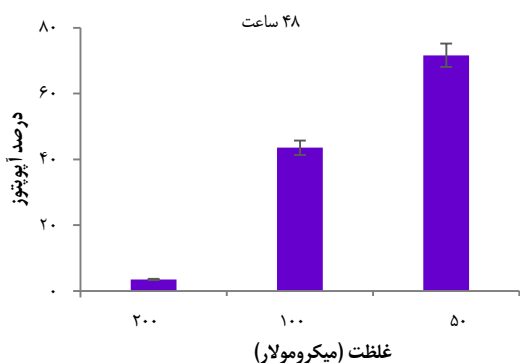
مطالعه جهت شناخت ویژگی‌های A2BAR برای مدت‌ها به علت نبودن آگونیست اختصاصی بدون پیشرفت و با مشکل رو به رو بود. به تازگی، با به کار بردن روش‌ها و ابزارهای جدید ژنتیکی و دارویی اختصاصی برای A2BAR، به اهمیت این گیرنده در فرایندهای سلولی توجه ویژه‌ای شده است. غلظت آدنوزین خارج سلولی در شرایطی مانند هیپوکسی، التهاب و ایسکمی افزایش می‌یابد. در این حالت نیز بیان A2BAR افزایش پیدا می‌کند. با این شناخت، مطالعات زیادی جهت بررسی نقش A2BAR در شرایط پیش گفته طراحی شده‌اند (۷). گیرنده‌ی A2bAR نقش اساسی در کنترل التهاب سلولی، واکنش‌های ایمنی، مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول، تقسیم سلولی و تمایز سلولی دارد. میزان بیان و عملکرد گیرنده‌ی A2bAR در سلول و بافت‌های مختلف، متفاوت می‌باشد (۸-۱۱).

شناسایی BAY-60-6583 به عنوان آگونیست اختصاصی A2BAR به شناخت عملکرد این گیرنده کمک قابل توجهی کرده است (۹). با توجه به افزایش شیوع سرطان کلیه در کشورهای در حال توسعه، مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی اثر آگونیست گیرنده‌ی



شکل ۱. نتایج روش 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium bromide (MTT) غلظت‌های مختلف ACHN در رده سلولی BAY 60-6583 کارسینوما کلیه در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت

سنجش فلوسایتومتري برای ارزیابی پتانسیل القای آپوپتوز آگونیسست BAY 60-6583 بر روی سلول‌های سرطانی رده ACHN استفاده شد. نتایج نشان داد غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار از آگونیسست BAY 60-6583 بعد از ۴۸ ساعت، باعث القای بیشترین آپوپتوز در رده سلول‌های ACHN شد که برای دو غلظت پیش‌گفته به ترتیب بیش از ۴۰ و ۷۰ درصد بود (شکل ۲).



شکل ۲. نتایج روش فلوسایتومتري غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار BAY 60-6583 در رده سلولی کارسینوما کلیه

بحث

در دهه‌ی گذشته، مطالعات بسیاری در مورد مکانیسم سرطان کلیه انجام گرفته است. در سال‌های اخیر، برای درمان سرطان، داروهای متعددی جهت القای آپوپتوز استفاده می‌شود (۱۲). آدنوزین به عنوان یک نوکلئوزید پورینی، تأثیرات فیزیولوژیک بسیاری مانند ممانعت از تجمع پلاکتی، اثر روی سیستم عصبی، سیستم قلبی-عروقی و

شاهد در قیاس با میزان جذب نوری فورمازان تولیدی در نمونه محاسبه شد.

فلوسایتومتري: به منظور تعیین درصد سلول‌های آپوپتوز شده در جمعیت سلولی تحت تیمار با دارو و قیاس آن با جمعیت سلولی شاهد، رنگ‌آمیزی سلول‌ها با کیت Annexin-V FITC (BioLegend, USA) انجام گرفت؛ به این صورت که بعد از تیمار کردن سلول‌ها با ۳ غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار از BAY 60-6583 و ۴۸ ساعت انکوباسیون (در این زمان بیشترین اثر در روش MTT مشاهده شد)، سلول‌ها تریپسینه شدند و با بافر فسفات سالیین (Phosphate buffered saline یا PBS) استریل شستشوی سلول‌ها انجام گرفت.

رسوب سلولی به دست آمده، در بایندینگ بافر آنکسین V (Annexin V binding buffer) به حالت محلول درآورده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سلولی در لوله‌ی ۵ میلی‌لیتر فلوسایتومتري ریخته شد. ۵ میکرولیتر از رنگ آنکسین (Annexin-V) و ۱۰ میکرو لیتر از رنگ پروپیدیوم یدید (Propidium iodide یا PI) نیز به محتویات موجود در لوله اضافه شد. سپس، لوله به آرامی ورتکس و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق (۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) و تاریکی انکوبه شد. در نهایت، آنالیز سلولی توسط دستگاه فلوسایتومتري انجام گرفت.

واکوی آماری: در این مطالعه، همه‌ی آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) انجام شد. آزمون Two-way ANOVA و همچنین، آزمون‌های تعقیبی Tukey Scheffe مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها

MTT تأثیر آگونیسست BAY 60-6583 بر روی زنده ماندن سلول‌های رده ACHN از طریق روش MTT ارزیابی شد. جهت ارزیابی اثر دارو بر تعداد سلول‌های زنده در طی آزمایش، درصد سلول‌های زنده در طی دوره‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اثر دارو در غلظت‌های مختلف محاسبه شد.

نمونه‌های تیمار شده با آگونیسست BAY 60-6583، جذب نوری کمتری نسبت به سلول‌های شاهد داشتند. نتیجه‌ی آزمایش نشان داد که جمعیت سلول‌های زنده‌ی رده ACHN در تیمار با آگونیسست BAY 60-6583 کاهش یافته است. بیشترین اثر دارو در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار و پس از سپری شدن ۴۸ ساعت از قرار گرفتن در معرض دارو مشاهده شد. سلول‌های تیمار نشده به عنوان شاهد استفاده شدند (شکل ۱).

کبد، افزایش بیان A2bAR و نقش آن در رشد تومورها را نشان می‌دهد. علاوه بر این، A2bAR باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی بر اساس نوع رده‌ی سلول و غلظت آگونیست و آنتاگونیست می‌شود (۵). به عنوان مثال، در رده‌ی سلولی سرطان پروستات، به کار بردن آنتاگونیست A2bAR (PSB603) توقف رشد این سلول‌ها را به همراه دارد (۶) و در سلول‌های ماهیچه‌ی صاف شریان‌ها، این آگونیست A2bAR است که آپوپتوز را القا می‌کند (۷). در فیروبلاست‌های قلبی و آنورت و سلول‌های ماهیچه‌ی صاف عروق، آدنوزین با اثر بر A2bAR باعث توقف رشد می‌شود؛ این در حالی است که در سلول‌های اندوتلیال شریانی موش، این عمل باعث تکثیر و رشد سلول‌ها می‌شود. پس با این حال، باید به این امر توجه کرد که A2bAR در سلول‌های ماهیچه‌ی صاف توقف رشد و در سلول‌های اندوتلیال افزایش رشد را تحریک می‌کند (۷).

A2BAR به طور عمده در موبیرگ‌ها بیان می‌شود و اعتقاد بر این است که بیان عوامل رگ‌زایی را تعدیل می‌کند (۲۳). به طور کلی، آدنوزین سبب فعال کردن A2BAR در سلول‌های اندوتلیال شبکیه‌ی انسان می‌شود که ممکن است موجب تشکیل رگ‌های جدید به واسطه‌ی افزایش بیان عوامل رگ‌زایی شود (۲۴). با توجه به این قضیه، به نظر می‌رسد آنتاگونیست‌های A2BAR جهت تخریب فرایند رگ‌زایی در تومورها که لازمی رشد آن‌ها است، در *In vivo* مفید واقع شده است (۲۵).

در سلول‌های سرطانی کبد (Huh-7) آدنوزین خارج سلولی با کاهش بیان Cellular FLICE (FADD-like IL-1 β -converting enzyme)-inhibitory protein (c-FLIP) سبب القای آپوپتوز می‌شود که این عمل با فعال شدن کاسپاز ۸ به واسطه‌ی کاسپاز ۳ صورت می‌پذیرد. در این مطالعه، مشاهده شد که در سلول‌های Huh-7 آدنوزین از طریق Apoptosis-inducing factor (AIF)-homologous mitochondrion-associated inducer of death (AMID) و جدایی از آپوپتوز، سبب فعال شدن کاسپازها می‌شود (۸). به کار بردن آگونیست اختصاصی A2bAR (BAY 60-6583) در رده‌ی سلولی سرطان پروستات تسریع رشد این سلول‌ها را به همراه دارد و آنتاگونیست آن رشد سلول‌ها را کند می‌کند (۶).

در رده‌ی سلولی سرطان تخمدان، آگونیست A2bAR باعث توقف رشد سلول با القای آپوپتوز می‌شود (۵). در سلول‌های سرطان کلون، عملکرد آدنوزین به عنوان یک عامل مهار کننده‌ی سرطان به واسطه‌ی گیرنده‌ی A2bAR اعمال می‌شود و نیز در سلول‌های ایمنی، A2bAR به واسطه‌ی تولید Vascular endothelial growth factor (VEGF) رشد تومورها را تسریع می‌کند (۹). در سلول‌های سرطانی غدد درون‌ریز، A2bAR افزایش بیان پیدا می‌کند و رشد سلول‌ها را

سیستم ایمنی دارد (۱۷-۱۳). این تأثیرات، به واسطه‌ی فعال‌سازی گیرنده‌های آدنوزینی می‌باشد. این گیرنده‌ها در بافت و سلول‌های مختلف اثرات فیزیولوژیک و فارماکولوژیک مختلف مانند تکثیر سلولی، توقف چرخه‌ی سلولی و آپوپتوز دارند (۱۸).

آدنوزین و آنالوگ‌های آن سبب ایجاد آپوپتوز در سلول‌های اندوتلیال، آستروسیت و سایر سلول‌ها می‌شود. در مطالعات *In vivo* و *In vitro* آدنوزین به عنوان یک عامل مهار کننده‌ی تکثیر سلول‌های سرطانی شناسایی شده است (۱).

آدنوزین سبب مرگ سلول‌های تیموس موش با افزایش بیان Tumor protein p53 (P53) می‌شود. این عمل، مستقل از گیرنده‌های آدنوزین و تحریک بیان کاسپازها انجام گرفته است (۲). آدنوزین خارج سلولی سبب القای آپوپتوز در سلول‌های سرطان کلیه‌ی انسان، Renal cell carcinoma 4-von Hippel-Lindau (RCC4-VHL) و ACHN می‌شود. در سلول‌های RCC4-VHL و ACHN، به ترتیب گیرنده‌های آدنوزین نوع A3 و A2a باعث القای اثر آپوپتوزی آدنوزین و آگونیست‌های دیگر در این سلول‌ها می‌شوند (۳). در مطالعه‌ی انجام شده بر روی سلول‌های HepG2 مشاهده شد که آدنوزین سبب القای آپوپتوز با فعال کردن کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ در مسیر واسطه به P53 می‌شود (۴).

در Hepatic stellate cells (HSC) آدنوزین با اثر بر A2A سبب کاهش بیان P53 و retinoblastoma protein (Rb) می‌شود و به دنبال آن، کاهش پیری سلول و آپوپتوز را در این سلول‌ها به همراه دارد (۱۹). مطالعه‌ی دیگری نشان داد که آدنوزین در سلول‌های بدخیم مزوتلیوم پلور، سبب القای آپوپتوز با افزایش بیان P53 اما مستقل از کاسپاز می‌شود. در این مطالعه، همچنین مشاهده گردید که گیرنده‌ی آدنوزین A3 از مسیر جداگانه‌ای سبب القای آپوپتوز می‌شود (۲۰). آدنوزین در سلول‌های Lu-65 (رده‌ی سلولی سرطان ریه) با اثر بر گیرنده‌ی آدنوزین A3، سبب القای آپوپتوز با افزایش بیان P53 و Noxa و به دنبال آن فعال شدن کاسپازهای ۳ و ۹ می‌شود (۲۱).

P53 یک هدف برای عامل رونویسی GATA-2 می‌باشد. در مطالعه‌ای که بر روی سلول‌های کارسینوما کبد (HepG2) انجام شد، مشاهده گردید که آدنوزین تنظیم رونویسی P53 به وسیله‌ی GATA-2 را افزایش می‌دهد و سبب القای آپوپتوز از مسیر کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ می‌شود (۲۲).

از آن جایی که A2B بر خلاف سایر گیرنده‌ها، میل کمتری برای اتصال به آدنوزین دارد و در شرایط استرس سلولی از جمله سرطان، غلظت آدنوزین خارج سلولی افزایش می‌یابد، می‌توان انتظار داشت که A2B تحت این شرایط عملکرد بهتری را از خود نشان دهد. مطالعه‌ی بیان ژن‌ها در بافت‌های سرطانی مانند سرطان سلول‌های

تسریع می‌نماید (۹).

غلظت ۵۰ میکرومولار به طور تقریبی دو برابر غلظت ۱۰۰ میکرومولار بود.

با این حال، برای بررسی اثر A2BAR در القای آپوپتوز در رده‌ی سلولی ACHN به مطالعات بیشتری نیاز است. مطالعاتی که در آن میزان بیان ژن‌های دخیل و به دنبال آن میزان تولید پروتئین‌های دخیل در آپوپتوز و نیز مسیرهای درگیر در آن بررسی شود. با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که آگونیست BAY 60-6583 می‌تواند با تحریک گیرنده‌ی A2bAR در القای آپوپتوز نقش مؤثری داشته باشد. این مطالعه، می‌تواند برای بررسی‌های بیشتر در مورد نقش گیرنده‌ی آدنوزین نوع A2B در سرطان کلیه، یک آغاز باشد و با انجام مطالعات و آزمایش‌های بیشتر در این زمینه، می‌توان به یافتن عوامل بازدارنده‌ی رشد سلول‌های سرطانی دست یافت.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح تصویب شده به شماره‌ی ۳۹۴۹۰۳ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. بدین وسیله، از این دانشگاه جهت تأمین هزینه‌ی اجرای این مطالعه قدردانی می‌گردد.

در مطالعه‌ی حاضر، که به بررسی اثر فعال کنندگی آگونیست A2bAR (BAY 60-6583) در القای آپوپتوز در سلول‌های ACHN پرداخته شد، سلول‌ها با غلظت‌های مختلفی از BAY 60-6583 در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شدند و درصد زنده ماندن سلول‌ها با روش MTT اندازه گرفته شد. با بررسی نتایج MTT پس از سپری شدن ۴۸ ساعت و در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار، بیشترین اثر دارو مشاهده شد. برای بررسی میزان آپوپتوز در غلظت‌های ذکر شده، پس از تیمار و انجام فلوسایتومتری، بیشترین میزان آپوپتوز در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار اتفاق افتاد که این میزان آپوپتوز به طور قابل توجهی با گروه شاهد تفاوت داشت. برای غلظت ۲۰۰ میکرومولار در روش MTT، درصد زنده ماندن سلول‌ها ۴۰ درصد بود، اما نتایج سنجش آپوپتوز با نتایج MTT تفاوت بسیار زیادی داشت؛ به طوری که در این غلظت، میزان سلول‌های نکرورز ۸۳ درصد بود.

هر چند میزان زنده ماندن سلول‌ها در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار به طور تقریبی مشابه یکدیگر بود، اما میزان آپوپتوز در آن‌ها تفاوت چشم‌گیری داشت؛ به طوری که درصد آپوپتوز در

References

- de Vivar Chevez AR, Finke J, Bukowski R. The role of inflammation in kidney cancer. *Adv Exp Med Biol* 2014; 38(816): 197-234.
- Jin Z, Wallace L, Harper SQ, Yang J. PP2A:B56{epsilon}, a substrate of caspase-3, regulates p53-dependent and p53-independent apoptosis during development. *J Biol Chem* 2010; 285(45): 34493-502.
- Su Z, Yang Z, Xu Y, Chen Y, Yu Q. Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis. *Mol Cancer* 2015; 14: 48.
- Long JS, Crighton D, O'Prey J, Mackay G, Zheng L, Palmer TM, et al. Extracellular adenosine sensing-a metabolic cell death priming mechanism downstream of p53. *Mol Cell* 2013; 50(3): 394-406.
- Wei Q, Costanzi S, Balasubramanian R, Gao ZG, Jacobson KA. A2B adenosine receptor blockade inhibits growth of prostate cancer cells. *Purinergic Signal* 2013; 9(2): 271-80.
- Fishman P, Bar-Yehuda S, Synowitz M, Powell JD, Klotz KN, Gessi S, et al. Adenosine receptors and cancer. *Handb Exp Pharmacol* 2009; (193): 399-441.
- Aherne CM, Kewley EM, Eltzschig HK. The resurgence of A2B adenosine receptor signaling. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1808(5): 1329-39.
- Williams M, Jarvis MF. Purinergic and pyrimidinergic receptors as potential drug targets. *Biochem Pharmacol* 2000; 59(10): 1173-85.
- Burnstock G. Pathophysiology and therapeutic potential of purinergic signaling. *Pharmacol Rev* 2006; 58(1): 58-86.
- Burnstock G. Purine and pyrimidine receptors. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64(12): 1471-83.
- Merighi S, Mirandola P, Varani K, Gessi S, Leung E, Baraldi PG, et al. A glance at adenosine receptors: novel target for antitumor therapy. *Pharmacol Ther* 2003; 100(1): 31-48.
- Oosterwijk E, Rathmell WK, Junker K, Brannon AR, Pouliot F, Finley DS, et al. Basic research in kidney cancer. *Eur Urol* 2011; 60(4): 622-33.
- Nylander S, Femia EA, Scavone M, Berntsson P, Asztely AK, Nelander K, et al. Ticagrelor inhibits human platelet aggregation via adenosine in addition to P2Y12 antagonism. *J Thromb Haemost* 2013; 11(10): 1867-76.
- Hua X, Chason KD, Jania C, Acosta T, Ledent C, Tilley SL. Gs-coupled adenosine receptors differentially limit antigen-induced mast cell activation. *J Pharmacol Exp Ther* 2013; 344(2): 426-35.
- Wei CJ, Li W, Chen JF. Normal and abnormal functions of adenosine receptors in the central nervous system revealed by genetic knockout studies. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1808(5): 1358-79.
- Giorgi I, Nieri P. Adenosine A1 modulators: A patent update (2008 to present). *Expert Opin Ther Pat* 2013; 23(9): 1109-21.
- Kumar V, Sharma A. Adenosine: An endogenous modulator of innate immune system with therapeutic potential. *Eur J Pharmacol* 2009; 616(1-3): 7-15.
- Fredholm BB, IJerman AP, Jacobson KA, Klotz

- KN, Linden J. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacol Rev* 2001; 53(4): 527-52.
19. Ahsan MK, Mehal WZ. Activation of adenosine receptor A2A increases HSC proliferation and inhibits death and senescence by down-regulation of p53 and Rb. *Front Pharmacol* 2014; 5: 69.
20. Nogi Y, Kanno T, Nakano T, Fujita Y, Tabata C, Fukuoka K, et al. AMP converted from intracellularly transported adenosine upregulates p53 expression to induce malignant pleural mesothelioma cell apoptosis. *Cell Physiol Biochem* 2012; 30(1): 61-74.
21. Otsuki T, Kanno T, Fujita Y, Tabata C, Fukuoka K, Nakano T, et al. A3 adenosine receptor-mediated p53-dependent apoptosis in Lu-65 human lung cancer cells. *Cell Physiol Biochem* 2012; 30(1): 210-20.
22. Yaguchi T, Nakano T, Gotoh A, Nishizaki T. Adenosine promotes GATA-2-regulated p53 gene transcription to induce HepG2 cell apoptosis. *Cell Physiol Biochem* 2011; 28(4): 761-70.
23. Feoktistov I, Goldstein AE, Ryzhov S, Zeng D, Belardinelli L, Voyno-Yasenetskaya T, et al. Differential expression of adenosine receptors in human endothelial cells: role of A2B receptors in angiogenic factor regulation. *Circ Res* 2002; 90(5): 531-8.
24. Grant MB, Tarnuzzer RW, Caballero S, Ozeck MJ, Davis MI, Spoerri PE, et al. Adenosine receptor activation induces vascular endothelial growth factor in human retinal endothelial cells. *Circ Res* 1999; 85(8): 699-706.
25. Gessi S, Merighi S, Sacchetto V, Simioni C, Borea PA. Adenosine receptors and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1808(5): 1400-12.

Evaluation of the Effects A2B Adenosine Receptor-Agonist (BAY 60–6583) in Induction of Apoptosis in ACHN Renal Cancer Cell Line

Abdol-Vahab Shafiee¹, Mohammadreza Sharifi²

Original Article

Abstract

Background: A2B adenosine receptor (A2BAR) is member of the family of seven transmembrane G protein coupled receptor that are activated in high concentration of extracellular adenosine that occur in certain pathophysiological conditions. Activation of the A2B adenosine receptor in tumor cell line limits or promotes tumor growth. In current study, we investigated the role of A2B adenosine receptor-agonist in apoptosis induction in ACHN renal cancer cell line.

Methods: ACHN renal cancer cell line was selected to investigate the effect of A2B adenosine receptor-agonist (BAY 60-6583) on apoptosis. The cells were cultured in high glucose Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (10% FBS and 1% penicillin/streptomycin). Cell viability and apoptosis were evaluated using 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay and Annexin V/propidium iodide (PI), respectively.

Findings: Based on MTT assay, treated samples with 50, 100 and 200 μmol of BAY 60-6583 had approximately 50% viability after 48 hours. In addition, based on Annexin V/propidium iodide test, 50 and 100 μmol concentration of BAY 60-658 induced the most apoptosis after 48 hours.

Conclusion: According to the results, it can be concluded that BAY 60-6583 induces apoptosis in ACHN cell line with A2B adenosine receptor stimulation, therefore the A2B adenosine receptor-agonists can be used as agent that inhibit cancer growth.

Keywords: Adenosine, A2B adenosine receptor, BAY 60–6583, Apoptosis and kidney cancer

Citation: Shafiee AV, Sharifi M. Evaluation of the Effects A2B Adenosine Receptor-Agonist (BAY 60-6583) in Induction of Apoptosis in ACHN Renal Cancer Cell Line. J Isfahan Med Sch 2018; 36(466): 35-41.

1- Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mohammadreza Sharifi, Email: mo_sharifi@med.mui.ac.ir

اثر داروی اتریفل اسطوخدوس (Triphala Lavender) به عنوان داروی مکمل در درمان کودکان مبتلا به اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی

فرشته شکیبایی^۱، مهدی برهانی^۲، مهدی کهکشانی^۳، کیوان قدیمی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی (Attention-deficit/Hyperactivity disorder یا ADHD)، یک اختلال روان‌پزشکی شایع در کودکان است. هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی اثربخشی اتریفل اسطوخدوس (Triphala Lavender) به عنوان یک درمان مکمل همراه با متیل‌فنیدات در درمان کودکان مبتلا به اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی بود.

روش‌ها: در این مطالعه کارآزمایی بالینی که در اصفهان در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت، تعداد ۴۴ کودک مبتلا به اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی، با توجه به معیارهای ورود و خروج، وارد مطالعه و به صورت تصادفی به دو گروه مورد (تحت درمان با متیل‌فنیدات همراه با داروی اتریفل اسطوخدوس) و شاهد (تحت درمان با متیل‌فنیدات همراه با دارونما) تقسیم شدند. بیماران تا ۸ هفته تحت درمان قرار گرفتند. ابزار جمع‌آوری اطلاعات، پرسش‌نامه‌ی نسخه‌ی ۴ مقیاس نمره‌دهی اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی (ADHD-Rating Scale-IV یا ADHD-RS-IV) بود که در بدو ورود و هفته‌های ۲، ۴ و ۸ بعد از مداخله در بیماران استفاده شد.

یافته‌ها: نمره‌ی پرسش‌نامه‌ی ADHD-RS-IV، به صورت معنی‌داری در هر دو گروه بعد از مداخله کاهش پیدا کرد ($P < 0.001$ برای هر دو). میزان نمره‌ی پرسش‌نامه در هفته‌ی چهارم، در گروه مورد به صورت معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($P = 0.042$)، اما بین دو گروه اختلاف معنی‌داری از نظر نمره‌ی پرسش‌نامه در بدو ورود و هفته‌های ۲ و ۸ بعد از مداخله وجود نداشت ($P > 0.050$ برای همه).

نتیجه‌گیری: استفاده از داروی اتریفل اسطوخدوس (Triphala Lavender) به عنوان یک مکمل دارویی ممکن است در بیماران مبتلا به اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی، مؤثر باشد، اما با توجه به محدود بودن مطالعات در این مورد، برای بررسی نقش اتریفل اسطوخدوس در درمان اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی، مطالعات دیگر با حجم نمونه‌ی بالاتر و مدت زمان طولانی‌تر لازم است.

واژگان کلیدی: نقص توجه/بیش‌فعالی، اتریفل، اسطوخدوس، متیل‌فنیدات

ارجاع: شکیبایی فرشته، برهانی مهدی، کهکشانی مهدی، قدیمی کیوان. اثر داروی اتریفل اسطوخدوس (Triphala Lavender) به عنوان داروی مکمل در درمان کودکان مبتلا به اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۶): ۴۸-۴۲

حال، احتمال می‌رود عدم تعادل متابولیسم کاتکول‌آمین‌ها در کورتکس مغزی و کاهش فعالیت‌های نورآدرنژیک و دوپامینرژیک در بروز این بیماری دخیل باشند (۳). ADHD، آسیب‌های زیادی را از نظر هزینه‌های اقتصادی، استرس خانوادگی و مشکلات تحصیلی و حرفه‌ای، به سیستم بهداشت و درمان و جامعه وارد می‌کند (۴). از دیدگاه اقتصادی، هزینه‌ی مراقبت‌های بهداشتی برای کودکان و بزرگسالان مبتلا به ADHD، بالاتر از افراد فاقد این بیماری است (۵). به منظور مدیریت بیماری ADHD، استفاده از گزینه‌های

مقدمه

اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی (Attention-deficit/Hyperactivity disorder یا ADHD)، یک اختلال شایع عصبی-تکاملی در دوران کودکی است که در دنیا، شیوع بین ۱۰-۸ درصد در کودکان و ۴-۲ درصد در بالغین را به خود اختصاص داده است (۱). حدود ۵۰-۳۰ درصد از کودکان تشخیص داده شده در دوران کودکی، در دوران بلوغ نیز علائم بیماری را دارند (۲). علت یا اتیولوژی ADHD ناشناخته است. با این

۱- دانشیار، گروه روان‌پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳- دانشجوی پزشکی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

بر اساس متون و منابع طب سنتی ایران، اتریفیل (معرب تریپل) ترکیب دارویی است که از سه گیاه بلبله، هلیله و آمله تشکیل شده و یکی از انواع مهم دارویی این طب است. اتریفیل اسطوخدوس، حاصل اضافه شدن داروی گیاهی اسطوخدوس به ترکیب اتریفیل است. بر اساس منابع طب سنتی ایران، این ترکیب در کنترل انواع متعدد بیماری‌های مغز و اعصاب مؤثر است (۱۷). با توجه به محدودیت‌های ذکر شده برای مصرف متیل‌فنیدات در برخی از مبتلایان جهت کنترل ADHD و اثرات مفید ذکر شده برای گیاه اسطوخدوس بر روی سیستم اعصاب مرکزی، این کارآزمایی بالینی با هدف ارزیابی اثربخشی اتریفیل اسطوخدوس به عنوان یک درمان مکمل همراه با متیل‌فنیدات در درمان کودکان مبتلا به ADHD طراحی شد.

روش‌ها

این مطالعه کارآزمایی بالینی دو سو کور، تصادفی و کنترل شده، به عنوان پایان‌نامه‌ی دکترای حرفه‌ای پزشکی عمومی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب شد و در مرکز کارآزمایی بالینی با شماره‌ی IRCT2017091612782N18 ثبت شد. این مطالعه بر روی ۴۴ کودک مبتلا به ADHD که در سال ۱۳۹۵ به بیمارستان نور و حضرت علی اصغر (ع) اصفهان مراجعه کردند، انجام گرفت. معیارهای ورود شامل بیمارانی ۶-۱۲ سال مبتلا به ADHD به تشخیص روان‌پزشک متخصص اطفال بود. تشخیص بیمارانی بر اساس ملاک‌های تجدید نظر شده‌ی راهنمای تشخیصی و آماری اختلالات روانی (Diagnostic and statistical manual of mental disorders-IV-) text revision یا DSM-IV-TR) و توسط روان‌پزشک متخصص اطفال انجام گرفت. معیارهای خروج شامل بیمارانی مبتلا به عقب‌ماندگی ذهنی (با ضریب هوشی کمتر از ۷۰)، بیماری دو قطبی نوع ۱، سایکوز، تشنج و بیماری‌های مغزی و قلبی بود. همچنین، در صورت بروز عوارض جانبی در بیمارانی، عدم پی‌گیری درمان و یا عدم تمایل والدین به شرکت در مطالعه، بیمارانی از مطالعه خارج می‌شدند.

پس از تشخیص بیماری و اعلام رضایت والدین، بیمارانی وارد مطالعه شدند و در بدو ورود، اطلاعات دموگرافیک شامل سن، جنس و وزن ثبت شد. سپس، بیمارانی با استفاده از نرم‌افزار تصادفی‌سازی OxMaR، به دو گروه موازی مورد (۱۲ پسر و ۱۰ دختر) و شاهد (۱۴ پسر و ۸ دختر) تقسیم شدند. در این مرحله، پزشک معالج از نحوه‌ی تصادفی‌سازی بیمارانی بی‌اطلاع بود. همچنین، پزشک معالج و بیمارانی، از نوع درمان بی‌اطلاع بودند. بیمارانی گروه مورد، تحت درمان با قرص متیل‌فنیدات و قرص اتریفیل اسطوخدوس و بیمارانی گروه شاهد، تحت درمان با قرص

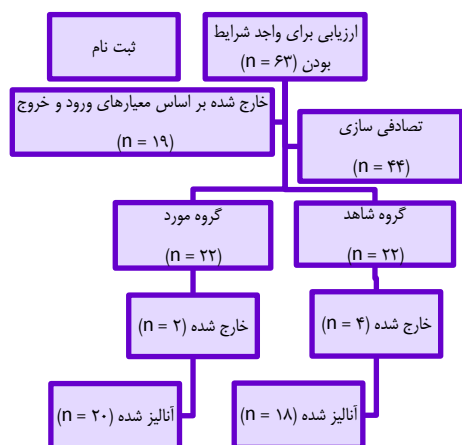
غیر دارویی شامل رفتاردرمانی و گزینه‌های دارویی شامل داروهای محرک و غیر محرک، برای درمان کودکان و بالغین مبتلا، ضروری است (۶). دارودرمانی برای کودکان پیش‌دبستانی به علت نامشخص بودن اثرات طولانی مدت آن توصیه نمی‌شود (۷). ADHD با داروهایی که مسیرهای دوپامینرژیک و نورآدرنرژیک را فعال می‌کنند و اغلب محرک هستند، درمان می‌شود. داروی غیر محرک مورد استفاده در درمان ADHD، Atomoxetine است که یک مهارکننده‌ی انتخابی بازجذب نوراپی نفرین است.

به طور کلی، داروهای محرک تأثیر بیشتری در درمان ADHD جوانان در مقایسه با داروهای غیر محرک دارند (۸-۹). اگر چه هر دو نوع داروهای محرک و غیر محرک تأثیر زیادی در درمان ADHD بالغین دارند، اما داروهای محرک به طور معمول اثربخشی کوتاه مدتی دارند. داروی انتخابی از گروه محرک‌ها، داروی متیل‌فنیدات (Methylphenidate) است (۱۰). علاوه بر این، ADHD با داروهای ضد افسردگی سه حلقه‌ای و بوپروپیون نیز درمان می‌شود که به طور معمول به عنوان خط چهارم درمان این اختلال مطرح هستند؛ به این صورت که بعد از درمان با دو داروی محرک و یک داروی غیر محرک، خطوط بعدی درمان، بوپروپیون و ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای خواهند بود (۱۱).

با وجود درمان‌های موجود، در ۳۰ درصد افراد دریافت‌کننده‌ی این داروها، پاسخ رضایت‌بخشی مشاهده نشده و یا عوارضی نظیر کاهش اشتها، اختلال خواب و عدم تحمل دارودرمانی مشاهده شده است. بنابراین، در بعضی موارد، درمان‌های مکمل و جایگزین مانند ویتامین‌ها، مواد معدنی، مکمل‌های غذایی و فرآورده‌های گیاهی، در کنار درمان اصلی مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از فرآورده‌های گیاهی دارویی، یک روش رایج در پزشکی، به منظور کنترل علائم ADHD است. عملکرد این داروها در کنترل ADHD، به طور معمول با افزایش سطح سروتونین مغزی و اثرات ضد اضطراب، ضد افسردگی، آرام‌بخشی و خواب‌آوری مرتبط است، اما به طور کلی، مطالعات محدودی در مورد نحوه‌ی اثربخشی این داروها در کنترل علائم ADHD وجود دارد (۱۲-۱۴).

گیاه اسطوخدوس (*Lavandula angustifolia* Mill) از خانواده‌ی نعنائیان (Lamiaceae)، گیاهی دارویی است که خواص ضد سردرد (به طور معمول سردرد کششی)، ضد اضطراب، ضد افسردگی و ضد دیابت دارد و در درمان بیماری‌های گوارشی نیز استفاده می‌شود. این گیاه دارای ترکیباتی نظیر لینالیل استات، لینالول، بتا اوسمین، سینئول، کامفر، کاریوفیلین اکساید، تانن، مشتقات رزمارینیک اسید، کومارین و فلاونوئید است که هر یک می‌توانند اثرات درمانی متعددی داشته باشند (۱۵-۱۶).

در این مطالعه، به منظور بررسی تغییرات نمره‌ی پرسش‌نامه‌ی ADHD-RS-IV در هر مقطع زمانی و همچنین، برای مقایسه‌ی بین دو گروه، از آزمون‌های t Paired Independent و Repeated measures ANOVA استفاده شد. علاوه بر این، داده‌های کمی به صورت میانگین و انحراف معیار و داده‌های کیفی به صورت تعداد یا درصد نشان داده شدند. همچنین، $P < 0/05$ ، به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.



شکل ۱. نمودار پی‌گیری بیماران در هر مرحله از مطالعه

متیل‌فنیدات و دارونما (حاوی نشاسته و لاکتوز) قرار گرفتند. دز درمانی متیل‌فنیدات با توجه به وزن کودکان و به این صورت تعیین شد: بیمارانی که وزن کمتر از ۳۰ کیلوگرم داشتند، قرص ۱۰ میلی‌گرم را دو بار در روز و بیمارانی که وزن بالای ۳۰ کیلوگرم داشتند، قرص ۱۰ میلی‌گرم را سه بار در روز دریافت کردند. داروی اتریفیل اسطوخدوس برای گروه مورد به میزان ۱/۵ گرم در روز، معادل ۳ قرص، به صورت منقسم و سه بار در روز تجویز شد. در گروه شاهد نیز به جای داروی اتریفیل اسطوخدوس، دارونما حاوی نشاسته و لاکتوز (مشابه داروی اتریفیل اسطوخدوس) به همان میزان تجویز شد. قرص متیل‌فنیدات با نام تجاری ریتالین (Novartis, Swiss) و قرص اتریفیل اسطوخدوس (شرکت داروسازی نیاک، ایران) از بازار گیاهان دارویی تهیه شد.

بیماران در هر دو گروه، تحت درمان با داروهای ذکر شده، به مدت ۸ هفته بودند. جهت ارزیابی وضعیت بهبود بیماران در طول دوره‌ی درمان، از نسخه‌ی ۴ مقیاس نمره‌دهی ADHD (ADHD-Ranking scale-IV یا ADHD-RS-IV) استفاده شد. این مقیاس، ۱۸ علامت ADHD را که بر اساس DSM-IV تعریف شده است، با استفاده از مقیاس نمره‌دهی ۰-۳ ارزیابی می‌کند (۱۸). پرسش‌نامه‌ی مربوط به این مقیاس، در بدو ورود به مطالعه و هفته‌های ۲، ۴، ۸ و ۱۲ در میان والدین (از طریق مصاحبه‌ی روان‌شناس) تکمیل شد و با توجه به نمره‌های کسب شده، میزان بهبود بیماری سنجیده شد. قابل ذکر است که ۲ بیمار از گروه مورد و ۴ بیمار از گروه شاهد، پی‌گیری درمانی را انجام ندادند و بنابراین، از مطالعه خارج شدند (شکل ۱).

با توجه به فرمول محاسبه‌ی حجم نمونه و با در نظر گرفتن سطح اطمینان معادل ۹۵ درصد، توان آزمون معادل ۰/۸، میزان انحراف معیار پرسش‌نامه‌ی ADHD-RS-IV برای داروی متیل‌فنیدات معادل ۳/۴۱ و اختلاف بین میانگین‌ها معادل ۲/۸۳ (۱۸)، تعداد نمونه ۲۲ نفر در هر گروه و ۴۴ نفر در کل محاسبه شد. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) واکاوی شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، از لحاظ شاخص‌های دموگرافیک، بین دو گروه اختلاف معنی‌داری از نظر جنس ($P = 0/540$)، سن ($P = 0/690$) و وزن ($P = 0/740$) وجود نداشت. سایر اطلاعات دموگرافیک در جدول ۱ آمده است.

نمره‌ی پرسش‌نامه‌ی ADHD-RS-IV، در بدو ورود و هفته‌های ۲، ۴ و ۸ بعد از مداخله، در هر دو گروه بررسی شد. از آزمون t برای مقایسه‌ی نمرات بین دو گروه در هر کدام از زمان‌های پی‌گیری استفاده شد. نتایج نشان داد میانگین نمرات در هفته‌ی ۴ بین دو گروه متفاوت است ($P = 0/042$)، اما در سایر زمان‌ها، تفاوت معنی‌داری بین میانگین نمرات دو گروه وجود نداشت ($P > 0/050$).

جدول ۱. اطلاعات دموگرافیک بیماران در دو گروه مورد و شاهد

متغیر	گروه مورد	گروه شاهد	مقدار P
تعداد	n = 22	n = 22	-
سن (سال) (میانگین \pm انحراف معیار)	9/36 \pm 2/23	9/68 \pm 2/98	0/690*
جنس	12 (54/5) پسر	14 (63/6) دختر	0/540**
وزن (کیلوگرم) (میانگین \pm انحراف معیار)	32/55 \pm 11/30	34/13 \pm 17/39	0/740*

*Independent t; ** χ^2

جدول ۲. نمره‌ی پرسش‌نامه‌ی ADHD-RS-IV (ADHD-RS-IV) در مراحل مختلف پی‌گیری در دو گروه

تغییرات نمرات	گروه مورد	گروه شاهد	مقدار P*
بدو ورود (میانگین \pm انحراف معیار)	۳۴/۰۹ \pm ۹/۴۴	۳۳/۲۲ \pm ۸/۹۸	۰/۷۵۸
هفته‌ی ۲ (میانگین \pm انحراف معیار)	۳۱/۰۵ \pm ۱۱/۷۸	۳۲/۸۸ \pm ۹/۶۳	۰/۶۰۴
هفته‌ی ۴ (میانگین \pm انحراف معیار)	۲۲/۰۵ \pm ۱۴/۵۶	۳۰/۲۲ \pm ۷/۹۵	۰/۰۴۲
هفته‌ی ۸ (میانگین \pm انحراف معیار)	۲۰/۰۱ \pm ۱۵/۸۲	۲۵/۷۲ \pm ۱۱/۲۰	۰/۲۱۱
مقدار P	$^{+} < ۰/۰۰۱$	$^{+} < ۰/۰۰۱$	$^{**} ۰/۲۴۷$

* نتیجه‌ی آزمون درون گروهی؛ ** نتیجه‌ی آزمون بین گروهی؛ * نتیجه‌ی آزمون t

صورت معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. با این که بین دو گروه اختلاف معنی‌دار قوی وجود نداشت، اما به نظر می‌رسد، اضافه کردن داروی اتریفل اسطوخدوس در مقایسه با دارونما، باعث کاهش بیشتر نمره‌ی پرسش‌نامه‌ی ADHD-RS-IV شد. همچنین، خروج ۴ نفر از بیماران گروه شاهد در مقایسه با خروج ۲ نفر از بیماران گروه مورد، می‌تواند نشانگر تأثیر بهتر داروی اتریفل اسطوخدوس باشد.

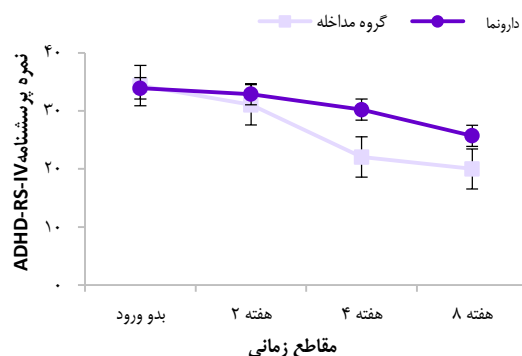
نبود اختلاف معنی‌دار قوی بین دو گروه شاهد و مورد، می‌تواند ناشی از پایین بودن حجم نمونه‌ی مورد مطالعه باشد. با این وجود، به نظر می‌رسد که اضافه کردن داروی اتریفل اسطوخدوس، می‌تواند در درمان بیماران مبتلا به ADHD اثر داشته باشد. اگر چه داروی انتخابی خط اول درمان بیماری ADHD در کودکان، متیل‌فنیدات یا ریتالین است (۱۰)، اما می‌توان از داروهای دیگر به خصوص داروهای گیاهی، ویتامین‌ها و مواد معدنی به عنوان مکمل درمان استفاده کرد (۱۲). مطالعه‌ی حاضر، اولین مطالعه‌ای بود که تأثیر داروی اتریفل اسطوخدوس بر روی بیماران مبتلا به ADHD را در حجم نمونه‌ی پایین بررسی کرده است.

در مطالعه‌ی نیک‌فرجام و همکاران (۱۹) که به بررسی اثر گیاه اسطوخدوس در درمان بیماری افسردگی پرداخته بودند، ۸۰ بیمار مبتلا به افسردگی که نیاز به مداخله‌ی دارویی داشتند، وارد مطالعه شدند و به دو گروه شاهد و مورد تقسیم شدند. سپس، گروه شاهد، قرص سیتالوپرام ۲۰ میلی‌گرم را به صورت دو بار در روز و گروه مورد قرص سیتالوپرام ۲۰ میلی‌گرم به همراه ۵ گرم اندام هوایی خشک شده‌ی اسطوخدوس (به شکل جوشانده) را به صورت دو بار در روز، به مدت ۸ هفته مصرف کردند.

در ادامه، وضعیت بهبود بیماران، با استفاده از پرسش‌نامه‌ی Hamilton (Hamilton rating scale for depression یا HRSD) بررسی شد. بر اساس این مطالعه، جوشانده‌ی اسطوخدوس نتایج مثبتی در درمان بیماران مبتلا به افسردگی داشت؛ به طوری که در پایان هفته‌ی ۸، میانگین امتیاز افسردگی (سنجیده شده با استفاده از پرسش‌نامه‌ی Hamilton) مربوط به گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کمتر بود.

به بیان دیگر، بین دو گروه، اختلاف معنی‌داری از نظر نمره‌ی پرسش‌نامه‌ی ADHD-RS-IV، در بدو ورود و هفته‌های ۲ و ۸ وجود نداشت ($P > ۰/۰۵۰$)، اما میزان نمره‌ی پرسش‌نامه‌ی ADHD-RS-IV، در هفته‌ی ۴، در گروه مورد، به صورت معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($P = ۰/۰۴۲$). سایر اطلاعات در جدول ۲ آمده است.

به منظور مقایسه‌ی نمرات پرسش‌نامه‌ی ADHD-RS-IV، در چهار زمان اندازه‌گیری درون هر کدام از گروه‌ها و همچنین، مقایسه‌ی رونند تغییرات نمرات بین دو گروه، از آزمون Repeated measures ANOVA استفاده شد. نتایج نشان داد تغییرات نمرات در هر دو گروه معنی‌دار است ($P < ۰/۰۰۱$)، اما تفاوت معنی‌داری بین روند تغییرات در دو گروه وجود ندارد ($P = ۰/۲۴۷$) (شکل ۲). هیچ عارضه‌ی جانبی در مدت پی‌گیری در دو گروه مشاهده نشد.



شکل ۲. تغییرات نمره‌ی پرسش‌نامه‌ی ADHD-RS-IV (ADHD-RS-IV) در دو گروه در مقاطع زمانی مختلف

بحث

بر اساس نتایج این مطالعه، نمره‌ی پرسش‌نامه‌ی ADHD-RS-IV، بعد از مداخله در هر دو گروه به صورت معنی‌داری کاهش پیدا کرد. همچنین، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه، بر اساس نمره‌ی پرسش‌نامه، در مقاطع زمانی هفته‌ی ۲ و ۸ بعد از مداخله وجود نداشت، اما میزان نمره‌ی پرسش‌نامه‌ی گروه مورد در هفته‌ی ۴ به

اسطوخدوس در کنترل علائم اضطراب می‌تواند مربوط به اثر شبه بنزودیازپینی ترکیبات شیمیایی مؤثر موجود در این گیاه و تقویت عملکرد مهارای γ -amino butyric acid (GABA) باشد (۲۱-۱۹).

با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات قبلی، به نظر می‌رسد استفاده از گیاه اسطوخدوس می‌تواند در درمان بیماری‌های روان‌پزشکی مفید باشد. مطالعه‌ی حاضر، اولین مطالعه‌ای است که تأثیر داروی اتریفیل اسطوخدوس را در کودکان مبتلا به ADHD بررسی کرد و نشان داد که استفاده از اتریفیل اسطوخدوس به عنوان داروی مکمل، می‌تواند تأثیر به نسبت خوبی در کاهش علائم بیماری در بیماران مبتلا به ADHD داشته باشد. با این حال، برای اثبات اثر داروی اتریفیل اسطوخدوس در درمان بیماری ADHD انجام مطالعات دیگر با حجم نمونه‌ی بالاتر و مدت زمان طولانی‌تر لازم است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه، حاصل پایان‌نامه‌ی دکتری عمومی پزشکی حرفه‌ای می‌باشد که در معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره‌ی ۳۹۵۲۹۵ به تصویب رسیده است. نویسندگان از همکاری خانم مریم غزنوی (کارشناس روان‌شناسی عمومی دانشگاه پیام نور مبارکه) سپاسگزاری می‌نمایند.

در این مطالعه، عارضه‌ی جانبی اصلی گزارش شده برای گروه مورد، تهوع و گیجی و برای گروه شاهد خشکی دهان و گیجی بود، اما از لحاظ بروز عوارض جانبی بین دو گروه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در پایان، نویسندگان این مطالعه به این نتیجه رسیدند که عملکرد مفید اسطوخدوس در درمان افسردگی می‌تواند مربوط به اثر ترکیبات شیمیایی مؤثر موجود در این گیاه، در افزایش میزان نوراپی‌نفرین و دوپامین باشد (۱۹).

در مطالعه‌ی Kasper (۲۰)، اثر یک فرم دارویی محتوی روغن اسطوخدوس با نام تجاری Silexan، در درمان بیماران مبتلا به اختلال اضطراب عمومی بررسی گردید. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه‌ی مروری، استفاده از روغن اسطوخدوس با نام تجاری Silexan به میزان ۸۰ میلی‌گرم در روز، در کنترل علائم اختلال اضطراب عمومی (سنجیده شده با مقیاس اضطراب Hamilton)، اثربخشی معادل استفاده از لورازپام به میزان ۰/۵ میلی‌گرم در روز دارد. همچنین، این فرآورده می‌تواند در کنترل علائم همراه اختلال اضطرابی مثل اختلال خواب، مشکلات روان‌تنی و کاهش کیفیت زندگی، اثرات سودمندی داشته باشد. در این مطالعه‌ی مروری، نشان داده شد که استفاده از Silexan با دوز روزانه ۱۶۰-۸۰ میلی‌گرم، به جز عوارض خفیف گوارشی، باعث بروز عارضه‌ی نامطلوب دیگری، تداخل دارویی و علائم سندرم قطع دارو نمی‌شود. عملکرد مفید

References

1. Faraone SV, Sergeant J, Gillberg C, Biederman J. The worldwide prevalence of ADHD: is it an American condition? *World Psychiatry* 2003; 2(2): 104-13.
2. Balint S, Czobor P, Meszaros A, Simon V, Bitter I. Neuropsychological impairments in adult attention deficit hyperactivity disorder: a literature review. *Psychiatr Hung* 2008; 23(5): 324-35. [In Hungarian].
3. Russell V, Allie S, Wiggins T. Increased noradrenergic activity in prefrontal cortex slices of an animal model for attention-deficit hyperactivity disorder--the spontaneously hypertensive rat. *Behav Brain Res* 2000; 117(1-2): 69-74.
4. Matza LS, Paramore C, Prasad M. A review of the economic burden of ADHD. *Cost Eff Resour Alloc* 2005; 3: 5.
5. Pelham WE, Foster EM, Robb JA. The economic impact of attention-deficit/hyperactivity disorder in children and adolescents. *J Pediatr Psychol* 2007; 32(6): 711-27.
6. Swanson JM, Sergeant JA, Taylor E, Sonuga-Barke EJ, Jensen PS, Cantwell DP. Attention-deficit hyperactivity disorder and hyperkinetic disorder. *Lancet* 1998; 351(9100): 429-33.
7. Greenhill LL, Posner K, Vaughan BS, Kratochvil CJ. Attention deficit hyperactivity disorder in preschool children. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 2008; 17(2): 347-66, ix.
8. Faraone SV, Biederman J, Spencer TJ, Aleardi M. Comparing the efficacy of medications for ADHD using meta-analysis. *MedGenMed* 2006; 8(4): 4.
9. Faraone SV. Using meta-analysis to compare the efficacy of medications for attention-deficit/hyperactivity disorder in youths. *P T* 2009; 34(12): 678-94.
10. Faraone SV, Glatt SJ. A comparison of the efficacy of medications for adult attention-deficit/hyperactivity disorder using meta-analysis of effect sizes. *J Clin Psychiatry* 2010; 71(6): 754-63.
11. Harpin VA. Medication options when treating children and adolescents with ADHD: interpreting the NICE guidance 2006. *Arch Dis Child Educ Pract* Ed 2008; 93(2): 58-65.
12. Wigal SB. Efficacy and safety limitations of attention-deficit hyperactivity disorder pharmacotherapy in children and adults. *CNS Drugs* 2009; 23(Suppl 1): 21-31.
13. Sinha D, Efron D. Complementary and alternative medicine use in children with attention deficit hyperactivity disorder. *J Paediatr Child Health* 2005; 41(1-2): 23-6.
14. Pellow J, Solomon EM, Barnard CN. Complementary and alternative medical therapies for children with

- attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). *Altern Med Rev* 2011; 16(4): 323-37.
15. Akhondzadeh S, Kashani L, Fotouhi A, Jarvandi S, Mobaseri M, Moin M, et al. Comparison of *Lavandula angustifolia* Mill. tincture and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized trial. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27(1): 123-7.
 16. Denner SS. *Lavandula angustifolia* Miller: English lavender. *Holist Nurs Pract* 2009; 23(1): 57-64.
 17. Aghili Khorasani MH. *Qrabadyan-e Kabir*. Tehran, Iran: Research Institute for Islamic and Complementary Medicine; 2007. [In Persian].
 18. Shang CY, Pan YL, Lin HY, Huang LW, Gau SS. An open-label, randomized trial of methylphenidate and atomoxetine treatment in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2015; 25(7): 566-73.
 19. Nikfarjam M, Parvin N, Asarzaghan N. The effect of *Lavandula angustifolia* in the treatment of mild to moderate depression. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2010; 11(4): 66-73. [In Persian].
 20. Kasper S. An orally administered lavender oil preparation (Silexan) for anxiety disorder and related conditions: an evidence based review. *Int J Psychiatry Clin Pract* 2013; 17 Suppl 1: 15-22.
 21. Koulivand PH, Khaleghi GM, Gorji A. Lavender and the nervous system. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 681304.

The Effect of Triphala Lavender Tablets on the Treatment of Children with Attention Deficit/Hyperactivity Disorder

Fereshteh Shakibaei¹, Mahdi Borhani², Mehdi Kahkeshani³, Keyvan Ghadimi³

Original Article

Abstract

Background: Attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD) is a common psychiatric disorder in the children. The purpose of this study was to evaluate the efficacy of Triphala Lavender tablets as an adjuvant therapy along with methylphenidate on the treatment of children with attention deficit/hyperactivity disorder.

Methods: In this clinical trial study that was done in Isfahan Province, Iran, in 2016, 44 children with attention deficit/hyperactivity disorder were enrolled according to inclusion (aged between 6 to 12 years) and exclusion (failure to follow up) criteria. The patients were randomly divided into two group as intervention (treated with methylphenidate and Triphala lavender tablets) and placebo (treated with methylphenidate and placebo). Patients were treated for 8 weeks. The assessment tool was Attention Deficit/Hyperactivity Disorder Rating Scale-IV (ADHD-RS-IV), which was used at the onset, and 2, 4, and 8 weeks after the intervention.

Findings: The ADHD-RS-IV scores significantly decreased in both groups after intervention ($P < 0.001$ for both). In addition, the ADHD-RS-IV in the intervention group was significantly lower than placebo group at the 4th week after the intervention ($P = 0.042$); but there was no significant difference between the two groups in ADHD-RS-IV at onset, and 2 and 8 weeks after the intervention ($P > 0.050$ for all).

Conclusion: The use of Triphala Lavender tablets as an adjuvant therapy may be effective in patients with attention deficit/hyperactivity disorder, but due to limited study about the role of Triphala Lavender tablets in treatment of these patients, we need future studies with larger sample sizes and longer time.

Keywords: Attention deficit disorders with hyperactivity, Triphala, Lavender, Methylphenidate

Citation: Shakibaei F, Borhani M, Kahkeshani M, Ghadimi K. **The Effect of Triphala Lavender Tablets on the Treatment of Children with Attention Deficit/Hyperactivity Disorder.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(466): 42-8.

1- Associate Professor, Department of Psychology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

3- Student of Medicine, Student Research Committee, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mahdi Borhani, Email: borhani-m@kaums.ac.ir

بررسی عوامل مؤثر بر بقای زنان مبتلا به سرطان پستان با استفاده از مدل Bayesian Cox

حسین فلاحزاده^۱، مرتضی محمدزاده^۲، ویدا پهلوانی^۳، نیما پهلوانی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سرطان پستان یکی از بیماری‌های شایع در میان زنان است که عوامل مختلفی در ایجاد آن دخالت دارند. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر نشانگرهای تومور Estrogen receptor 2 (ER)، Human epidermal growth factor receptor 2 (Her2) و آنتی ژن Ki67 و دیگر عوامل تأثیرگذار بر روی بقای بیماران شهر یزد با استفاده از روش آنالیز Bayesian Cox چندگانه بود.

روش‌ها: از میان مراجعه کنندگان به مرکز پرتودرمانی شهید رمضانزاده، ۵۳۸ نفر از بیماران مبتلا به سرطان پستان شناسایی شدند و اطلاعات آنان از سال‌های ۹۱-۱۳۸۴ ثبت شد. از نرم‌افزار R نسخه ۳.۴.۲ برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید. همچنین، $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: میانگین سن شرکت کنندگان $48/03 \pm 11/16$ سال و میانگین زمان بقا $4/23 \pm 97/64$ ماه بود. با استفاده از روش Kaplan-Meier میزان بقای ۱، ۳، ۵ و ۸ ساله‌ی زنان مبتلا به سرطان پستان به ترتیب $0/976$ ، $0/898$ ، $0/823$ و $0/737$ برآورد گردید. نتایج حاصل از آنالیز چندگانه‌ی Bayesian Cox نشان داد که متغیرهای Ki67 ($1/630-6/372$) Prediction interval یا 95 PI درصدها، Hazard ratio یا HR و ER ($2/023-3/354$) 95 PI درصدها، $2/592$ (HR = $2/592$)، مرحله‌ی بیماری ($4/079-7/730$) 95 PI درصدها، $5/620$ (HR = $5/620$)، درگیری غدد لنفاوی ($1/127-2/790$) 95 PI درصدها، $1/761$ (HR = $1/761$) و جراحی ($1/102-2/422$) 95 PI درصدها، $1/631$ (HR = $1/631$) روی زمان بقا تأثیر معنی‌داری داشتند.

نتیجه‌گیری: طبق آنالیز Bayesian Cox چندگانه، متغیرهای مرحله‌ی بیماری و درگیری غدد لنفاوی و نوع عمل جراحی و نشانگرهای ER و Ki67 بر روی مخاطره‌ی مرگ تأثیر مثبت دارند. با تلفیق روش Bayesian Cox و نیمه پارامتری در آنالیز بقا، به دلیل استفاده از اطلاعات پیشین و عدم نیاز به برقراری شروط روش پارامتری، مدل انعطاف‌پذیری و نیرومندی بیشتری در برابر اختصاص اشتباه احتمالات را دارد. این امر به نتایج اعتبار بیشتری می‌بخشد.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، آنالیز بقا، آنالیز Regression، آنتی ژن Ki67، Estrogen receptor

ارجاع: فلاحزاده حسین، محمدزاده مرتضی، پهلوانی ویدا، پهلوانی نیما. بررسی عوامل مؤثر بر بقای زنان مبتلا به سرطان پستان با استفاده از مدل

Bayesian Cox. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۶): ۴۹-۵۵

مقدمه

سرطان به عنوان یک بیماری کشنده، توأم با درد و ناتوانی در اذهان مردم جای گرفته است که در دهه‌های اخیر، در بسیاری از جوامع میزان بالایی از مرگ‌ها را به خود اختصاص می‌دهد. درمان‌های موجود در مورد سرطان نیز اغلب ضمن داشتن عوارض متعدد، هزینه‌بر است و میزان پاسخ‌دهی به درمان نیز در بسیاری از موارد کامل نیست (۱).

در این میان، سرطان پستان از شایع‌ترین بدخیمی‌های زنان و از علل اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان ۴۴-۴۰ ساله در

بسیاری از کشورهای پیشرفته و در حال توسعه به حساب می‌آید. سرطان پستان به تکنیک غیر طبیعی و بدخیم سلول‌های بافت پستان گفته می‌شود که به طور کلی به دو گروه کارسینوم درجا (غیر تهاجمی) و سرطان مهاجم تقسیم می‌گردد. بر اساس آخرین آمار اعلام شده، میزان ابتلا به سرطان پستان در زنان ایرانی ۲۷/۵ در ۱۰۰۰ نفر است. میزان بقای ۵ ساله در این بیماران، در مراکز مختلف بین ۴۸-۸۴ درصد و میزان بقای کلی ۷۲ درصد گزارش شده است. این سرطان، نوعی بیماری وابسته به هورمون و پرولیفراسیون بدخیم آن

۱- استاد، گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

۲- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه آمار زیستی، دانشکده‌ی علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه آمار زیستی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

۴- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر، به صورت تحلیلی و هم‌گروهی از نوع آنالیز بقا بود. برای اجرای مطالعه، ابتدا چک لیستی شامل مشخصات بیماران، عوامل مورد بررسی (سن، اندازه‌ی تومور، درگیری غدد لنفاوی، متاستاز اولیه، مراحل بیماری، پاتولوژی، تهاجم لنفی - عروقی و عصبی، درجه‌ی تومور، نشانگرهای تومور نظیر Human epidermal growth factor receptor 2 (Her2)، گیرنده‌ی استروژن (ER یا Estrogen receptor) و آنتی‌ژن Ki67. روش برداشتن غدد لنفاوی، وضعیت غدد لنفاوی درگیر، درگیری پستان مقابل، نوع روش جراحی پستان شامل ماستکتومی یا (BCT) Breast conservation therapy، درمان‌های همراه (پرتودرمانی بعد از جراحی، شیمی درمانی از بعد جراحی، هورمون‌درمانی)، عود موضعی، متاستاز دوردست، پیشامد و بقای بیماران و داشتن بیماری بافت همبند) تهیه گردید.

سپس، پرونده‌های بیماران موجود در بایگانی مرکز پرتودرمانی شهید رمضانزاده یزد که مبتلا به سرطان پستان بودند، از ابتدای سال ۱۳۸۴ تا پایان سال ۱۳۹۱ بررسی شد و جهت بررسی بقای ۵۳۸ نفر از بیماران به صورت سرشماری، با آنان تماس تلفنی حاصل گردید. همچنین، مراجعه به مرکز بهداشت استان جهت ثبت دقیق زمان فوت بیماران صورت گرفت.

آن‌گاه، اطلاعات به دست آمده توسط نرم‌افزارهای Excel و R پیرایش شد. قبل از انجام Regression بقا، به علت زیاد بودن تعداد متغیرهای پیش‌گو برای ورود به مدل، ابتدا از تحلیل عاملی اکتشافی جهت تشخیص متغیرهای پیش‌گوی همبسته و جلوگیری از پیامدهای هم‌خطی در Regression و کاهش بعد داده‌ها استفاده گردید. با استفاده از تحلیل عاملی اکتشافی، متغیرها به پنج عامل مستقل تخصیص یافتند و از هر عامل، یک متغیر با توجه به بار عاملی آن کاندیدای ورود به مدل Regression شد. در نهایت، با توجه به نتایج حاصل از تحلیل عاملی و نظر پزشک خبره، هفت متغیر شامل Her2، Ki67، ER، سن (کمتر از ۴۰ یا بیشتر و مساوی ۴۰ سال)، روش جراحی (ماستکتومی یا BCT)، مرحله‌ی بیماری (اولیه یا پیشرفته) و درگیری غدد لنفاوی (دارد یا ندارد)، به عنوان عوامل خطر احتمالی بر زمان بقای سرطان پستان در نظر گرفته شد. در قسمت مدل‌بندی Regression نیز متغیرها هم به صورت تک تک و هم به صورت هم‌زمان وارد شدند. با وارد کردن این ۷ متغیر، مدل برازش داده شد و نتایج هر دو روش ساده و چندگانه در جدول ارائه گردید. از بسته‌های نرم‌افزاری SurvMisc (۵)، SpBayesSurv (۶) و Coda (۷) تحت نرم‌افزار R، برای آنالیز بقای Bayes در این پژوهش استفاده شد. در تمام آزمون‌ها، $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

دسته از سلول‌های اپیتلیال است که مجاری یا لوبول‌های پستان را می‌پوشاند. در ایران، ۱۶ درصد از کل سرطان‌ها مربوط به سرطان پستان می‌باشد که رتبه‌ی اول را در بین زنان دارد (۲).

تحلیل بقا، مجموعه‌ای از روش‌های آماری برای تحلیل داده‌هایی است که متغیر پیامد در آن‌ها زمان تا رخداد یک پیشامد خاص است. در تحلیل‌های بقا، به طور معمول متغیر زمان را زمان بقا می‌نامیم؛ چرا که این متغیر تعیین کننده‌ی مدت زمانی است که یک فرد در طول دوره‌ی پی‌گیری «بقا یافته» است (۳). یکی از روش‌های معمول تحلیل بقا، Cox regression می‌باشد که در برخورد با داده‌های حذف شده، انعطاف‌پذیری بهتری از خود نشان می‌دهد که البته محدودیت‌هایی نیز دارد. بهترین گزینه برای جانشینی محدودیت‌های Cox، استفاده از روش Bayes می‌باشد.

دلیل اصلی این معرفی، ترکیب اطلاعات پیشین با داده‌های موجود در روش Bayes است که موجب دقت برآوردها می‌شود و یافته‌های تحقیق را غنی‌تر می‌سازد و با مشاهده‌ی یک داده‌ی جدید و استدلال در مورد توزیع احتمال آن، می‌توان تصمیمات بهینه‌ای اتخاذ کرد. از آن جایی که در علوم طبیعی و به خصوص پزشکی، اطلاعات قبلی از اهمیت بسیار زیادی برخوردارند، با استفاده از اطلاعات گذشته‌ی بیمار و اطلاعات جانبی مفید، به محاسبه‌ی عامل Bayes پرداخته می‌شود و شواهد کافی برای نسبت دادن هر بیماری جمع‌آوری می‌گردد و با احتمال بالاتری تشخیص بیان می‌شود.

همچنین، با تکیه بر قدرت استفاده از توزیع‌های پیشین در مقالات مشابه قابل دسترس، ضرورت تکرار نمونه‌گیری با حجم بالا به حداقل می‌رسد. در تحلیل Bayes، توزیع احتمال پیشین به دو صورت آگاهی‌بخش و غیر آگاهی‌بخش انتخاب می‌شود. اگر هیچ گونه اطلاعاتی راجع به پارامترها و داده‌ها در دست نباشد، داده‌های پیشین را غیر آگاهی‌بخش انتخاب می‌کنند، اما در استنباط آگاهی‌بخش، توزیع‌های پیشین از راه مطالعات قبلی و تجارب گذشته، به دست می‌آید (۴). اغلب مطالعات انجام شده در کشور که از روش غیر Bayes (فراوانی‌گرا) استفاده کرده‌اند، ایرادهایی همچون عدم دخالت نظر کارشناس خبره در آزمون‌های آماری، حساس بودن نتایج به خطای نمونه‌گیری و انواع تورش‌ها و کاهش توان آزمون به ویژه در بیماری‌هایی نظیر سرطان پستان که نرخ مرگ بسیار کم است، دارند.

از این رو، به دلیل جلوگیری از مشکلات پیش‌گفته، ضرورت ترویج روش Bayes بسیار حایز اهمیت می‌باشد. در این مطالعه، با در نظر گرفتن توزیع‌های پیشین متفاوت بر روی داده‌ها و استفاده از متآنالیزها، مدل Bayesian Cox برازش داده شد. هدف از انجام این مطالعه، تعیین میزان بقای سرطان پستان و عوامل مرتبط بر مخاطره‌ی آن در بیماران شهر یزد با استفاده از مدل Bayesian Cox بود.

جدول ۱. فراوانی بیماران مبتلا به سرطان پستان به تفکیک عوامل خطر

عوامل خطر	تعداد (درصد)	زمان بقا (میانگین ± انحراف معیار)	مقدار P*
سن	کمتر از ۴۰ سال بیشتر یا مساوی ۴۰ سال	۱۳۲ (۲۴/۵) ۴۰۶ (۷۵/۵)	۰/۳۷۴
گیرنده‌ی استروژن (ER)	مثبت منفی	۲۶۴ (۶۲/۶) ۱۵۸ (۳۷/۴)	۰/۰۷۸
Ki67	مثبت منفی	۲۸۷ (۹۰/۸) ۲۹ (۹/۲)	۰/۸۲۶
درگیری غدد لنفاوی	ندارد دارد	۱۷۶ (۳۳/۰) ۳۵۷ (۶۷/۰)	۴/۰۲۴
روش جراحی پستان	BCT ماستکتومی	۳۱۲ (۵۸/۰) ۲۲۶ (۴۲/۰)	۰/۰۰۸
Her2	مثبت منفی	۱۱۵ (۳۰/۷) ۲۵۹ (۶۹/۳)	۰/۹۷۰
مرحله‌ی بیماری (Stage)	مرحله اولیه مرحله پیشرفته	۱۰۰ (۱۸/۶) ۴۳۸ (۸۱/۴)	۰/۰۷۵

ER: Estrogen receptor; Her2: Human epidermal growth factor receptor 2; BCT: Breast conserving therapy

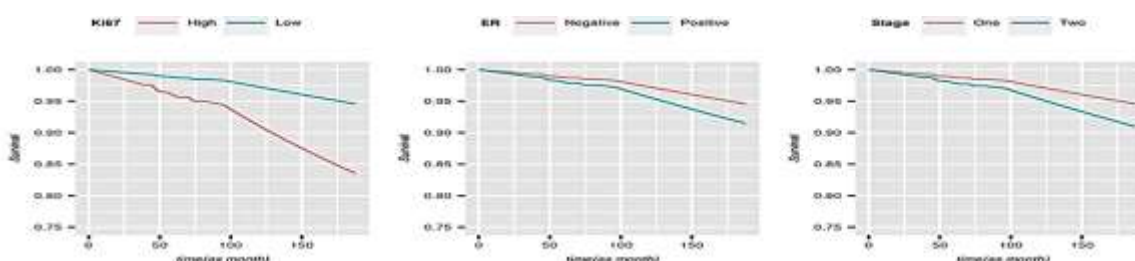
* مقدار P با تصحیح Renyi برای منحنی‌های بقای متقاطع؛ ° سطح معنی‌داری با $P < ۰/۰۵۰$ برای آزمون Fleming-Harrington

نشان داد فرض متناسب بودن مخاطرات برقرار می‌باشد ($P = ۰/۳۹۹$). در روش Bayes از Markov chain Monte Carlo (MCMC) استفاده می‌شود؛ به طوری که با انجام نمونه‌گیری‌های بسیار زیاد، از توزیع پسین پارامترها، آن‌ها را تحت تابع زیان مشخص تخمین می‌زند. در این پژوهش، نمونه‌گیری Gibbs sampling انجام شد و تابع زیان مربع خطا در نظر گرفته شد. بنابراین، میانگین توزیع پسین به عنوان برآورد نهایی مقدار Hazard ratio (HR) برای هر متغیر محاسبه گردید. این نمونه‌ها باید تصادفی و بدون روند خاصی باشند (خود همبستگی نداشته باشند). استفاده از شاخص‌های Geweke و Raftery Lewis به منظور تصادفی بودن نمونه‌ها (نزدیک به ۱) و عدم خودهمبستگی (کمتر از ۲/۵۶) زنجیر Markov chain (Markov chain) تولید شده استفاده شد. همچنین، استنباط‌های آماری به جای مقدار P و فاصله‌ی اطمینان، با فاصله‌ی احتمال (فاصله‌ی اعتبار) یا Probability interval (Credible interval) یا به اختصار PI انجام گرفت. شکل ۱، نمودار بقای Bayes را برای متغیرهای مهم در این پژوهش نشان می‌دهد و جدول ۲، صحت برازش را تأیید می‌کند.

یافته‌ها

در این پژوهش، ۵۳۸ بیمار مبتلا به سرطان پستان وارد مطالعه شدند. در این بین، تعداد ۱۰۹ نفر (۲۰/۳ درصد) بر اثر این بیماری فوت کردند. رویداد مورد نظر در این مطالعه مرگ بر اثر سرطان پستان می‌باشد. با استفاده از روش Kaplan-Meier میزان بقای ۱، ۵، ۳ و ۸ ساله‌ی زنان مبتلا به سرطان پستان به ترتیب ۰/۹۷۶، ۰/۸۹۸، ۰/۸۲۳ و ۰/۷۳۷ برآورد گردید. میانگین سن بیماران $۴۸/۰۳ \pm ۱۱/۱۶$ سال و میانگین زمان بقای بیماران $۴/۲۳ \pm ۹۷/۶۴$ ماه بودند. در جدول ۱، اطلاعات مربوط به آمار توصیفی ارائه شده است.

در این پژوهش، با بررسی مطالعات مختلف، میانگین و واریانس ضرایب متغیرهای معنی‌دار مشخص گردید و توزیع طبیعی، به عنوان توزیع پیشین به صورت آگاهی‌بخش انتخاب شد و مدل Bayesian Cox به صورت ساده و چندگانه بررسی گردید؛ در حالت چندگانه، به دلیل آوردن هم‌زمان و بررسی همه‌ی متغیرها و خطای کمتر، نتایج معتبرتر است. پس نتایج حاصل از مدل چندگانه به عنوان نتایج نهایی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. به منظور بررسی فرضیه‌ی متناسب بودن مخاطرات Cox، از آزمون Schoenfeld (۸) استفاده شد و نتایج آزمون



شکل ۱. نمودار بقا به تفکیک متغیرهای مهم با استفاده از روش Bayesian Cox

جدول ۲. نتایج برازش مدل Bayes Cox به صورت ساده و چندگانه

عوامل خطر	مدل Bayesian Cox ساده			مدل Bayesian Cox چندگانه		
	Geweke	Raftery-Lewis	HR (PI %۹۵)	Geweke	Raftery-Lewis	HR (PI %۹۵)
سن						
بیشتر یا مساوی ۴۰ سال	۱/۱۰	۱/۱۸	۰/۸۳۰ (۰/۵۶۰-۱/۲۵۴)	۱/۱۱۸	۱/۱۸	۰/۸۳۷ (۰/۳۹۰-۱/۹۲۷)
کمتر از ۴۰ سال	۱	۱		۱	۱	
گیرنده‌ی استروژن (ER)						
مثبت	۱/۱۶	۱/۰۸	۰/۶۰۷ (۰/۴۰۳-۰/۹۱۵)	۰/۸۰۵	۱/۰۸	۰/۶۰۰ (۰/۲۰۲۳-۰/۳۵۴)
منفی	۱	۱		۱	۱	
Ki67						
مثبت	۱/۳۶	۱/۱۳	۰/۹۷۶ (۰/۳۶۷-۲/۲۳۳)	-۰/۷۵۹	۱/۱۳	۰/۳۲۶ (۰/۱۶۳۰-۰/۳۷۲)
منفی	۱	۱		۱	۱	
درگیری غدد لنفاوی						
دارد	۱/۲	-۱/۰۷	۰/۱۷۶۵ (۰/۴۲۸-۱/۲۰۳)	۰/۰۱۱	-۱/۰۷	۰/۱۷۶۵ (۰/۱۲۷-۲/۷۹۰)
ندارد	۱	۱		۱	۱	
روش جراحی پستان						
ماستکتومی	۱/۲۲	۱/۱۱	۰/۶۹۵ (۰/۱۴۷-۲/۵۴۰)	۰/۵۶۶	۱/۱۱	۰/۶۳۱ (۰/۱۰۲-۲/۴۲۲)
BCT	۱	۱		۱	۱	
Her2						
مثبت	۱/۲۱	۱/۱۰	۱/۰۱۴ (۰/۶۲۱-۱/۶۱۸)	۹۰۰/-۰	۱/۱۰	۰/۹۴۴ (۰/۶۳۴-۱/۴۱۸)
منفی	۱	۱		۱	۱	
مرحله‌ی بیماری (Stage)						
مرحله‌ی پیشرفته	۱/۲۷	۱/۰۸	۱/۴۶۱ (۰/۸۶۹-۲/۵۶۰)	۲/۸۷۰	۱/۰۸	۰/۵۶۲ (۰/۰۷۹-۲/۷۳۱)
مرحله‌ی اولیه	۱	۱		۱	۱	

PI: Prediction interval; ER: Estrogen receptor; Her2: Human epidermal growth factor receptor 2; BCT: Breast conserving therapy

یافت نشد (۱۳). همچنین، از لحاظ متغیر روش جراحی پستان، بیمارانی که جراحی ماستکتومی داشتند، ۱/۶۳۱ برابر نسبت به روش BCT بقای کمتری داشتند. در مطالعه‌ی مسلمی و همکاران، روش BCT را به دلیل داشتن آرامش روحی بیمار پیشنهاد کردند، اما بر خلاف نتایج مطالعه‌ی حاضر، اختلاف معنی‌داری دیده نشد (۱۴). در مطالعه‌ی سعادت‌مند و همکاران درباره‌ی تأثیر مرحله‌ی بیماری بر روی بقای ۱۷۳۷۹۷ بیمار، مشاهده شد که روش جراحی ماستکتومی، ۲/۶۶ برابر نسبت به روش BCT مخاطره‌ی مرگ بیشتری دارد. همچنین، در این مطالعه همانند نتایج مطالعه‌ی حاضر، متغیر Her2 منجر به اختلاف معنی‌داری نشد (۱۵).

حجم نمونه‌ی کم باعث شد تا مطالعه‌ی مسلمی و همکاران (۱۴) نتواند اثر روش جراحی را معنی‌دار تشخیص دهد؛ در حالی که مطالعه‌ی سعادت‌مند و همکاران (۱۵)، به دلیل حجم نمونه‌ی بالا، از توان آزمون بالاتری در تشخیص معنی‌داری روش جراحی بهره برده است. استفاده‌ی مطالعه‌ی حاضر از روش Bayes حتی با حجم نمونه‌ی کمتر نسبت به مطالعه‌ی سعادت‌مند، توان آزمون را حفظ نمود و نتیجه‌ی مشابه

بحث

این پژوهش، به منظور بررسی عوامل مؤثر بر سرطان پستان با استفاده از آنالیز بقای Bayes به روش Cox (خطرات متناسب) انجام شد. در این مطالعه، متغیر سن از نظر آماری معنی‌دار نبود که با یافته‌های مطالعه‌ی تذهیبی و همکاران مطابقت دارد. این مطالعه، در زمینه‌ی میزان بقای ۹۹۶ بیمار مبتلا به سرطان پستان در اصفهان و به منظور بررسی عوامل خطر در بیماران مناس‌تاز انجام شده است (۹). این نتیجه، می‌تواند به دلیل استفاده از نقطه‌ی برش یکسان برای متغیر سن باشد. متغیر Ki67 معنی‌دار بود و بیمارانی با درصد Ki67 مثبت ۳/۲۶۰ برابر، مخاطره‌ی مرگ بیشتری نسبت به حالت منفی دارند. در مطالعات دیگری نیز این نتیجه مورد تأیید قرار گرفته است (۱۰). بر روی نقش Ki67 در سرطان پستان، همواره اختلاف نظرهای زیادی بوده است (۱۱).

در مطالعه‌ی Nishimura و همکاران، بالاتر بودن Ki67 با درجه‌ی بدخیمی بیشتر و بقای کمتر همراه بوده است (۱۲)، اما در مطالعه‌ی Bryan و همکاران، ارتباطی بین Ki67 و گیرنده‌ی آندروژن

که اگر هیچ اطلاعاتی در مورد پارامترها از مطالعات پیشین به دست نیاید و توزیع پیشین پارامترها را ناآگاهی بخش در نظر گیرند؛ آن گاه Cox کلاسیک و Bayesian Cox منجر به یافته‌های یکسان می‌شود (۲۳). در این پژوهش، از توزیع‌های پیشین آگهی‌بخش استفاده نمودیم. همچنین، نتایج به دست آمده با قابلیت بالایی قابل استناد می‌باشد. یکی از مشکلات اصلی پژوهش‌ها، پایین بودن حجم نمونه می‌باشد؛ چرا که نمونه‌گیری با حجم بالا، با محدودیت‌هایی همراه است که روش Bayesian با تکیه بر اطلاعات دریافت شده از متآنالیزها و منابع علمی، امکان ارایه‌ی نتایج دقیق حتی در نمونه‌های با حجم پایین را فراهم می‌سازد.

می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تلفیق روش Bayesian و نیمه پارامتری در آنالیز بقای بیماری‌هایی نظیر سرطان، نتایج دقیق‌تری از نظر خطای برآورد در مقایسه با روش‌های معمولی ارایه می‌دهد. در پایان، توصیه می‌شود که از مدل‌های شفا (Cure models) بر روی این داده‌ها، به جای آنالیز بقا استفاده شود. تلفیق روش Bayesian و مدل‌های شفا (۲۴)، می‌تواند به عنوان گزینه‌ی جایگزین در مطالعات آتی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی آمار زیستی به شماره‌ی طرح پژوهشی ۴۸۸۹ مصوب در دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد می‌باشد که با حمایت مالی و معنوی این دانشگاه انجام شده است. از همکاران این دانشگاه و پرسنل محترم مرکز پرتودرمانی شهید رمضانزاده که در پیشبرد این طرح ما را یاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

با آن به دست آمد. مرحله‌ی بیماری (Stage) در بیشتر مطالعات تأثیرگذار بوده است، مانند مطالعه‌ی Rakha و همکاران (۱۶) که در آن بیماران با مرحله‌ی بیماری پیشرفته، ۵/۶۲۰ برابر بیشتر از بیماران با مرحله‌ی ابتدایی بیماری در مخاطره‌ی مرگ بودند.

Ren و همکاران، در پژوهشی دریافت بیمارانی که بیماری آن‌ها در مرحله‌ی پیشرفته می‌باشد، ۲/۶ برابر مخاطره‌ی مرگ بیشتری نسبت به بیماران با مرحله‌ی ابتدایی بیماری دارند (۱۷). همچنین، تأثیر گیرنده‌ی استروژن (ER) بر میزان بقای بیماران معنی‌دار بود و بیماران با ER مثبت، ۲/۶ برابر نسبت به بیماران ER منفی، مخاطره‌ی مرگ بیشتری دارند که در بیشتر تحقیقات ثابت شده است (۱۸). در آخر، متغیر درگیری غدد لنفاوی از نظر آماری تأثیر معنی‌داری بر بقای بیماران داشت و بیماران با درگیری غدد لنفاوی، ۱/۷۶۵ برابر نسبت به بیماران بدون درگیری غدد لنفاوی، مخاطره‌ی مرگ بیشتری داشتند. این یافته‌ها، مطالعه‌ی زارع و همکاران (۱۹) و فلاحزاده و همکاران (۲۰) هم‌خوانی دارد. از نظر پزشکی، ثابت شده است که درگیری غدد لنفاوی از عوامل تأثیرگذار بر روی سرطان پستان می‌باشد (۲۱). حقیقت و همکاران، به بررسی میزان بقا در بیماران مبتلا به سرطان پستان پرداختند؛ به طوری که در یک مطالعه‌ی طولی، ۶۲۳ بیمار مبتلا به سرطان پستان مراجعه کننده به مرکز بیماری‌های پستان جهاد دانشگاهی در سال‌های ۸۵-۱۳۷۶ را مورد مطالعه قرار دادند و نتیجه گرفتند بر طبق آنالیز Cox، برآورد نسبت مخاطره یا HR نشان داد که درگیری غدد لنفاوی ($HR = 2/25$) و گیرنده‌ی استروژنی منفی ($HR = 2/60$)، مهم‌ترین عواملی بودند که ارتباط معنی‌داری با کاهش میزان بقای افراد تحت مطالعه داشتند (۲۲). Ibrahim و همکاران، از صاحب‌نظران بقای Bayesian، گزارش نمودند

References

1. Nelson HD, Fu R, Cantor A, Pappas M, Daeges M, Humphrey L. Effectiveness of breast cancer screening: Systematic review and meta-analysis to update the 2009 U.S. Preventive Services Task Force Recommendation. *Ann Intern Med* 2016; 164(4): 244-55.
2. Kazemi A, Eskandari O, Amin Mohammad M, Nesaee P. A survey on breast cancer status in Kurdistan province on medical geography viewpoint during 2006- 2010. *J Health Syst Res* 2015; 11(3): 459-72. [In Persian.]
3. Kleinbaum DG, Klein M. *Survival Analysis*. New York, NY: Springer; 2010. vol. 3.
4. Ibrahim JG, Chen MH, Sinha D. Criterion-based methods for bayesian model assessment. *Stat Sin* 2001; 11(2): 419-23.
5. Dardis C. survMisc: An R package to facilitate survival analysis. *Neuro-Oncology* 2013; 15: 32-6.
6. Zhou H, Hanson T. spBayesSurv: Bayesian Modeling and Analysis of Spatially Correlated Survival Data. 2014.
7. Plummer M, Best N, Cowles K, Vines K. CODA: convergence diagnosis and output analysis for MCMC. *R News* 2006; 6(1) pp. 7-11.
8. Therneau TM, Grambsch PM. *Modeling survival data: Extending the Cox Model*. New York, NY: Springer; 2000.
9. Tazhibi M, Fayaz M, Mokarian F. Detection of prognostic factors in metastatic breast cancer. *J Res Med Sci* 2013; 18(4): 283-90.
10. Yerushalmi R, Woods R, Ravdin PM, Hayes MM, Gelmon KA. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. *Lancet Oncol* 2010; 11(2): 174-83.
11. Vera-Badillo FE, Chang MC, Kuruzar G, Ocena A, Templeton AJ, Seruga B, et al. Association between androgen receptor expression, Ki-67 and the 21-gene recurrence score in non-metastatic, lymph node-negative, estrogen receptor-positive and HER2-

- negative breast cancer. *J Clin Pathol* 2015; 68(10): 839-43.
12. Nishimura R, Osako T, Okumura Y, Hayashi M, Toyozumi Y, Arima N. Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer subtype and a predictor of recurrence time in primary breast cancer. *Exp Ther Med* 2010; 1(5): 747-54.
 13. Bryan RM, Mercer RJ, Bennett RC, Rennie GC, Lie TH, Morgan FJ. Androgen receptors in breast cancer. *Cancer* 1984; 54(11): 2436-40.
 14. Moslemi D, Gholizadeh Pasha A, Hajian K, Sum S, Pourghasem M, Jahantigh R. Comparison of modified radical mastectomy with breast conservative therapy and radiotherapy in patients with breast cancer. *J Babol Univ Med Sci* 2012; 14(5): 36-41. [In Persian].
 15. Saadatmand S, Bretveld R, Siesling S, Tilanus-Linthorst MMA. Influence of tumour stage at breast cancer detection on survival in modern times: Population based study in 173 797 patients. *BMJ* 2015; 351.
 16. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* 2007; 109(1): 25-32.
 17. Ren Y, Black DM, Mittendorf EA, Liu P, Li X, Du XL, et al. Crossover effects of estrogen receptor status on breast cancer-specific hazard rates by age and race. *PLoS One* 2014; 9(10): e110281.
 18. Fatemeh Asadzadeh Vostakolaei, Mireille J. M. Broeders, Nematollah Rostami, et al., Age at diagnosis and breast cancer survival in Iran. *International Journal of Breast Cancer* 2012; 2012: 517976.
 19. Zare N, Khodarahmi S, Rezaianzadeh A. The role of prognostic factors on the survival of breast cancer patients: Bayesian approach. *Iran J Epidemiol* 2015; 11(3): 23-33. [In Persian].
 20. Fallahzadeh H, Momayyezi M, Akhundzardeini R, Zarezardeini S. Five year survival of women with breast cancer in Yazd. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(16): 6597-601.
 21. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989; 63(1): 181-7.
 22. Haghghat S, OlfatBakhsh A, Sadjadian A, Mehrdad N, Ansari M, Ebrahimi M, et al. Survival rate and its correlated factors in breast cancer patients referred to Breast Cancer Research Center. *Iran J Breast Dis* 2013; 6(3): 28-36. [In Persian].
 23. Ibrahim JG, Chen MH, Sinha D. Bayesian survival analysis. New York, NY: Springer; 2004.
 24. Klein JP, van Houwelingen HC, Ibrahim JG, Scheike TH. Handbook of survival analysis. Boca Raton, FL: CRC Press; 2014.

A Study on the Prognostic Factors of Breast Cancer Survival Time Using Bayesian Cox Model

Hossein Fallahzadeh¹, Morteza Mohammadzadeh², Vida Pahlavani³, Nima Pahlavani⁴

Original Article

Abstract

Background: Breast cancer is one of the common diseases among women with various factors involved in it. The purpose of this study was to investigate the effect of tumor markers, estrogen receptor (ER), human epidermal growth factor receptor 2 (Her2), and Ki67 antigen, and other factors affecting the survival time of patients with breast cancer in Yazd City, Iran, using Bayesian multiple Cox regression analysis.

Methods: This was a population-based study of 538 women with breast cancer registered in the clinical database of the Ramezanzade Radiotherapy Center from the April 2005 until March 2012. Comprehensive data on prognostic factors, comorbidity and treatment together with complete follow-up for survival were used to evaluate improvements in mortality. Data was analyzed using R 3.4.2 software. P-value of less than 0.050 was considered as the significance level.

Findings: The mean age of patients with breast cancer and the mean survival time were 48.03 ± 11.16 years and 97.64 ± 4.23 months, respectively. Based on Kaplan-Meier method, the 1, 3, 5 and 8-year cumulative survivals in patients with breast cancer were 0.976, 0.898, 0.823, and 0.737, respectively. Bayesian Cox regression analysis showed that surgery [Hazard ratio (HR): 1.631, 95% Prediction interval (PI): 1.102-2.422], ki67 (HR: 3.260, 95%PI: 1.6308-6.372), stage (HR: 5.620, 95%PI: 4.079-7.731), lymph node (HR: 1.765, 95%PI: 1.127-2.790), and estrogen receptor (HR: 2.033, 95%PI: 2.023-3.354) were significantly related to survival time.

Conclusion: According to Bayesian multiple cox regression, stage, Ki67, lymph node, estrogen receptor, and surgery variables have a positive effect on death hazard. By combining Bayesian and semi-parametric methods in survival analysis, in order to use prior information and relaxation of parametric assumption, the model gain more flexibility and robustness against misspecification of the probability model; this gives more valuable results.

Keywords: Breast cancer, Survival analysis, Regression analysis, Ki-67 antigen, Estrogen receptor

Citation: Fallahzadeh H, Mohammadzadeh M, PahlavanV, Pahlavani N. **A Study on the Prognostic Factors of Breast Cancer Survival Time Using Bayesian Cox Model.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(466): 49-55.

1- Professor, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2- PhD Student, Department of Biostatistics, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3- MSc Student, Department of Biostatistics, School of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

4- Student of Medicine, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Corresponding Author: Vida Pahlavani, Email: vida.pahlavani@yahoo.com

بررسی غلظت‌های مختلف پلاسمای غنی از پلاکت بر تمایز استئوبلاستی سلول‌های استرومای مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی

مریم چراغ‌زاده^۱، علیرضا خیراله^۲، هنا حنایی اهواز^۳، حمید گله‌داری^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سلول‌های استرومایی مزانشیمی (Mesenchymal stem cells یا MSCs)، سلول‌های بنیادی با توان تمایزی بالا می‌باشند که طی دهه‌ی گذشته کاربرد آن‌ها در زمینه‌ی تمایز استخوان به صورت درون‌تن و برون‌تن مورد پژوهش واقع شده و استفاده از پلاسمای غنی از پلاکت (Platelet-rich plasma یا PRP)، می‌تواند این روند را تسریع کند. با توجه به محدودیت مطالعات انسانی در این زمینه و مشخص نبودن غلظت ایده‌آل پلاسمای غنی از پلاکت، پژوهش حاضر با هدف مقایسه‌ی غلظت‌های کاربردی این ماده بر روند تمایز استئوبلاستی سلول‌های مزانشیمی انسانی انجام شد.

روش‌ها: سلول‌های مزانشیمی از بافت چربی انسانی استخراج و به رده‌ی سلولی استخوان تمایز داده شدند و اثر غلظت‌های ۱۰ و ۱۵ درصد پلاسمای غنی از پلاکت بر میزان تمایز استخوانی، با اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی شامل فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و میزان رسوب کلسیم و بررسی میزان بیان ژن‌های RUNX2 و Osteocalcin، به روش Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) سنجیده شد.

یافته‌ها: سلول‌های برگرفته از بافت چربی انسانی، با دارا بودن قدرت تمایز به رده‌ی سلولی چربی و استخوان، می‌توانند در غلظت ۱۰ درصد پلاسمای غنی از پلاکت علاوه بر تمایز زودرس استخوانی، افزایش معنی‌داری در بیان ژن‌های نشانگر استخوانی، فعالیت آنزیم و رسوب کلسیم نسبت سایر گروه‌ها نشان دهند.

نتیجه‌گیری: پلاسمای غنی از پلاکت فعال شده به عنوان یک کاتالیزور بیولوژیک اثر آشکار و متفاوتی را بر تمایز استخوانی سلول‌های مزانشیمی انسانی در غلظت‌های مختلف نشان داد؛ به گونه‌ای که شروع روند تمایز استئوژنیک در پلاسمای غنی از پلاکت ۱۰ درصد نسبت به سایر گروه‌ها زودتر مشاهده شد. تحقیقات آتی در این زمینه، می‌تواند نویدبخش بهبود کاربرد بالینی این ماده در بازسازی استخوان باشد.

واژگان کلیدی: پلاسمای غنی از پلاکت، سلول‌های استرومایی مزانشیمی، تمایز سلولی، استئوبلاست

ارجاع: چراغ‌زاده مریم، خیراله علیرضا، حنایی اهواز هنا، گله‌داری حمید. بررسی غلظت‌های مختلف پلاسمای غنی از پلاکت بر تمایز استئوبلاستی

سلول‌های استرومای مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۶): ۶۳-۵۶

استرومای مغز استخوان گزارش نمود و گروه همکاران وی، اولین کسانی بودند که توان تمایزی این سلول‌ها را به سلول‌های استخوانی نشان دادند (۲). این دسته از سلول‌ها، از بافت‌های مختلف نظیر خون محیطی، بافت چربی، خون بند ناف، غشاهای زلاله‌ای (Synovial membrane)، دندان‌های عقل و مایع آمیوتیک جداسازی شدند (۳). بازسازی استخوان بعد از آسیب و شکست، از جمله آسیب‌هایی است که سلول‌های مزانشیمی در ترمیم آن نقش

مقدمه

سلول‌های استرومایی مزانشیمی (Mesenchymal stem cells یا MSCs)، سلول‌های چند توانی هستند که قابلیت تمایز به چند رده‌ی محدود از انواع سلول‌ها نظیر آدیپوسیت، استئوبلاست، کندروسیت و سلول‌های اندوتلیال را از خود نشان می‌دهند (۱). در سال ۱۹۷۰، Friedenstein و همکاران، برای اولین بار حضور جمعیتی از سلول‌های بنیادی غیر هماتوپوئیتیک (Nonhematopoietic stem cell) را در

۱- دانشجوی دکتری، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات فن‌آوری بن‌باخته، تهران، ایران

۴- استاد، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

مورد بررسی واقع شده است، اما نقطه‌ی ضعف تمام این پژوهش‌ها، نبود توافق در کاربرد غلظت‌های مختلف این ماده است. بر طبق آن چه گفته شد، هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی غلظت‌های کاربردی PRP بر تمایز استئوژنیک بود تا از این طریق، غلظت بهینه جهت تسریع و تسهیل تحریک تمایز استئوژنیک جهت پژوهش‌های آتی، پیشنهاد گردد.

روش‌ها

مواد: در این مطالعه، از آنزیم کلاژناز، انسولین، دکرامتازون، ایندومتاسین، بتا گلیسرول فسفات، اسکوربیک اسید بی فسفات و آمفوتریسین (Sigma, USA)، آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین و استرپتومایسین (Atocell, Hungary)، محیط کشت (Gibco, USA) Fetal bovine serum (FBS) و آنزیم (DMEM) Dulbecco's modified eagle's medium (trypsin/EDTA) Trypsin/Ethylendiaminetetraacetic acid (بیوایده، ایران) استفاده شد.

جداسازی و فعال‌سازی پلاسمای غنی از پلاکت: نمونه‌ی خون هیپارینه با رضایت از افراد گرفته شد و در شرایط استریل به مدت ۱۰ دقیقه با شتاب ۱۳۴۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و لایه‌ی میانی که حاوی پلاکت بود، به همراه پلاسمای لوله‌ی جدید منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه با شتاب ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. رسوب پلاکت‌ها به منظور فعال‌سازی به همراه کلرید کلسیم ۲۰ درصد به مدت دو ساعت در فریزر ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید.

استخراج و کشت سلول‌های استرومایی مزانشیمی از بافت

چربی: نمونه‌های بافت چربی انسانی از متقاضیان جراحی‌های زیبایی ابدومینوپلاستی مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی اهواز (n = ۶) با کسب رضایت کتبی، به صورت استریل و در محلول بافری Phosphate buffered saline (PBS) حاوی آنتی بیوتیک و ضد قارچ، جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. تمام مراحل کار در شرایط استریل و طبق شیوه‌نامه‌ی چاپ شده در مقاله‌ی پیشین انجام شد (۱۴). سلول‌های جدا شده در محیط کشت DMEM و FBS ۱۰ درصد، پنی سیلین و استرپتومایسین و آمفوتریسین ۱ درصد و شرایط ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و دی‌اکسید کربن (CO₂) ۵ درصد و میزان رطوبت ۹۵ درصد انکوبه گردید. تعویض محیط هر سه روز یک بار انجام شد و سلول‌ها در تراکم ۸۰ درصد با استفاده از آنزیم trypsin/EDTA ۰/۰۱ درصد پاساژ داده شدند.

همچنین، میزان بیان نشانگرهای مزانشیمی و هماتوپوئیتیک شامل CD34, CD45, CD90 و CD105 با تکنیک فلوسایتومتری سنجیده

فعال دارند و سلول‌های مزانشیمی پس از فراخوانی به ناحیه‌ی آسیب، به کندروسیت و استئوبلاست متمایز می‌شوند (۴-۵) و علاوه بر نقش مستقیم در شکل‌گیری کندروسیت و استئوبلاست، از طریق تولید و ترشح سیتوکاین‌ها و عوامل رشد، تنظیم رگ‌زایی و متعادل‌سازی ایمنی به طور غیر مستقیم نیز در این فرایند ایفای نقش می‌کنند (۶). در حالی که از روش‌های تزریق مستقیم سلول‌های مزانشیمی و یا قرار دادن این سلول‌ها در اسکافولدها برای تسریع درمان شکستگی‌های استخوانی استفاده می‌شود، استفاده از کاتالیزورهایی که این روند را تسریع می‌کنند نیز در حال پیشرفت می‌باشد. این کاتالیزورها، باید تمایز و تکثیر سلول‌های مزانشیمی را بهبود ببخشند و در عین ارزان بودن و دسترسی سریع و سازگاری با شرایط بیولوژیکی بدن، تأثیری بر ساختار سلولی و بیولوژیکی سلول‌های مزانشیمی نداشته باشند. یکی از پرکاربردترین این کاتالیزورها، پلاسمای غنی از پلاکت (Platelet-rich plasma یا PRP) می‌باشد که چندین نوع عامل رشد دارد و برای اولین بار در سال ۲۰۰۷ مشخص شد که این ماده دارای عوامل رشد لازم برای استخوان‌سازی است (۷).

پلاسمای غنی از پلاکت برای اولین بار در سال ۱۹۱۴ توسط Dimond کشف گردید و تا چهار دهه تصور بر این بود که فقط در سیستم هماتوپوئیتیک مؤثر است (۷). تا این که در سال ۱۹۷۴، Ross و همکاران حین کار با سلول عضلانی، متوجه شدند اضافه کردن پلاکت و کلسیم خاصیت میتوژنی و رشد سلول‌ها را افزایش می‌دهد (۸). برخی گزارش‌های جدید حاکی از حضور حدود ۶۰۰ عامل رشد در PRP است که مسؤول تمایز، بازسازی زخم و بافت هستند (۹). برخی محققین معتقدند که پلاکت‌ها به علت ترشح پپتیدهای آنتی میکروبیال، خاصیت آنتی بیوتیکی و ضد التهابی نیز دارند (۱۰-۱۱).

این عوامل رشد، زمانی آزاد می‌شود که پلاکت‌ها توسط برخی عوامل نظیر کلاژن، ترومبین، سروتونین، کلسیم و منیزیم، ترومبوکسان و یا عوامل مکانیکی مانند چرخه‌های فریز کردن، فعال شوند. به تازگی، به طور هم‌زمان با افزایش کاربرد سلول‌های مزانشیمی در پزشکی بازساختی، درمان با PRP نیز در حال گسترش می‌باشد و از این ماده در بازسازی استخوانی و جراحی‌های ارتوپدی استفاده می‌شود (۱۳-۱۲).

با وجود کاربرد این ماده در بالین، همچنان پژوهش‌های *In vitro* بر روی این ماده طی سال‌های اخیر بسیار مورد توجه پژوهشگران بوده است؛ چرا که داده‌های به دست آمده از مطالعات انسانی محدود می‌باشند و زمان بیشتری نیاز است تا با دلایل محکم بتوان نقش دقیق بالینی PRP را مشخص کرد. در حالی که تأثیر پلاسمای غنی از پلاکت بر سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان و چربی، به طور گسترده

پروتئین نیز در هر مورد با استفاده از روش Lowry محاسبه و در نهایت، داده‌های به دست آمده از آزمون رنگ‌سنجی بر اساس میزان تام پروتئین طبیعی شدند.

انکوباسیون سلول‌های مزانشیمی انسانی با پلاسمای غنی از

پلاکت: سلول‌های مزانشیمی انسانی با تراکم $10^3 \times 5$ سانتی مترمربع در پلیت‌های شش خانه قرار گرفت و در چهار گروه شامل دو گروه PRP 10 درصد (DMEM و PRP 10 درصد) و گروه شاهد (DMEM و FBS 10 درصد) و گروه Gold standard medium (دگزامتازون 10^{-7} میلی‌مولار، Beta glycerol phosphate 10 میلی‌مولار، Ascorbic Acid bi-phosphate 50 میکروگرم/میلی‌لیتر، DMEM و FBS 10 درصد) به طور همزمان مورد تیمار قرار گرفتند.

استخراج RNA Total، سنتز cDNA و

Quantitative real time PCR RNA تام (Total RNA) با استفاده از تراپزول (Invitrogen, USA) طبق شیوه‌نامه‌ی شرکت سازنده استخراج گردید. سنتز (cDNA) complementary DNA طبق کیت مخصوص (Takara, Japan) و با استفاده از پرایمرهای راندوم هگزامر و الیگو dt انجام شد. در نهایت، میزان بیان ژن‌های RUNX2، OCN، با استفاده از کیت Master mix SYBR green (Takara, Japan)، در همه‌ی گروه‌ها در مقابل گروه شاهد با روش مقایسه‌ای ($2^{-\Delta\Delta CT}$) استفاده از Beta2- Microglobulin به عنوان شاهد داخلی به دست آمد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. توالی پرایمرهای انسانی مورد استفاده در

(Real-time PCR) Real time polymerase chain reaction

ژن	توالی پرایمر
B2M	F: ATG CCT GCC GTG TGA AC R: ATC TTC AAA CCT CCA TGA TG
OCN	F: GCA AAG GTG CAG CCT TTG TG R: GGC TCC CAG CCA TTG ATA CAG
RUNX2	F: GCC TTC AAG GTG GTA GCC C R: CGT TAC CCG CCA TGA CAG TA

واکاوی آماری: بررسی آماری این مطالعه با استفاده از آزمون ANOVA با سطح معنی‌داری $P < 0.05$ و میانگین \pm انحراف معیار در نرم‌افزار GraphPad Prism6.07(2015) انجام شد. تمام داده‌ها بر اساس سه تکرار بیولوژیک به دست آمد.

یافته‌ها

سلول‌های استرومایی مزانشیمی انسانی (Human mesenchymal stem cells)

شد. به طور خلاصه، پاساژ سوم سلول‌های مزانشیمی انسانی پس از جمع‌آوری توسط آنتی‌بادی Fluorescein isothiocyanate-conjugated (FITC-conjugated) و Phycoerythrin-conjugated برای نشانگرهای CD مورد نظر رنگ‌آمیزی شدند. همچنین، گروه شاهد منفی نیز با استفاده از Mouse anti-human Immunoglobulin G مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت، نتایج با نرم‌افزار WinMDI واکاوی گردید.

تمایز به رده‌های سلولی آدیپوسیت و استئوبلاست: پاساژ سوم

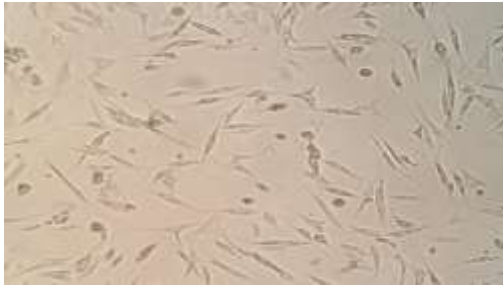
سلول‌های مزانشیمی انسانی جهت تمایز در پلیت‌های شش خانه و با تراکم $10^3 \times 5$ سانتی مترمربع قرار گرفتند و سلول‌ها به طور جداگانه با محیط تمایزی چربی شامل 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX) 0/5 میلی‌مولار، دگزامتازون 10^{-7} میلی‌مولار، انسولین 66 نانومولار، ایندومتاسین 0/2 میلی‌مولار و محیط تمایزی استخوان حاوی دگزامتازون 10^{-7} میلی‌مولار، Beta glycerol phosphate 10 میلی‌مولار و همچنین Ascorbic Acid bi-phosphate 50 میکروگرم/میلی‌لیتر تیمار شدند. محیط تمایزی هر دو روز یک بار تعویض گردید.

رنگ‌آمیزی اختصاصی چربی و استخوان: در روز 21 از شروع

تمایز، محیط کشت خارج شد و سلول‌ها پس از شستشو با PBS توسط فرمالین 10 درصد تثبیت شد و پس از حذف فرمالین، در معرض رنگ اختصاصی چربی شامل Oil red 0/3 درصد به مدت 15 دقیقه در ایزوپروپانول و سپس، جهت مشاهده‌ی قطرات چربی، مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. رنگ اختصاصی جهت تأیید تمایز استئوبلاست شامل Alizarin red 1/5 درصد بود که سلول‌ها پس از تثبیت با فرمالین به مدت 40 دقیقه در معرض آن قرار گرفتند و پس از چندین بار شستشو با آب، جهت زدودن بقایای رنگ، با میکروسکوپ بررسی شدند.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و رسوب

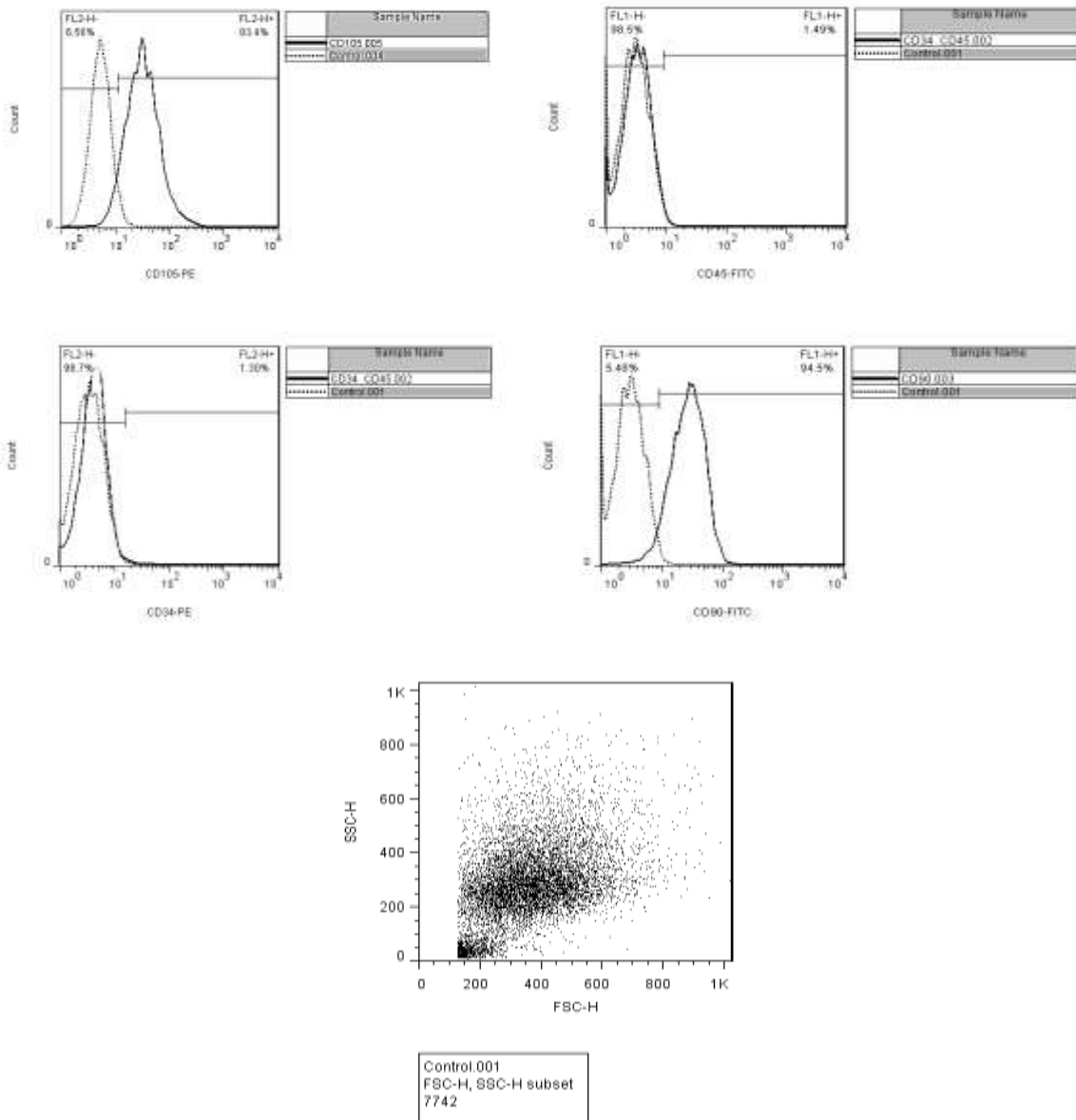
کلسیم: در روزهای 7 و 14 از دوره‌ی تمایزی استخوان، استخراج Radioimmunoprecipitation assay بافر کارگیری با ریف (RIPA) انجام شد و میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز بر طبق شیوه‌نامه‌ی کیت پارس آزمون (ایران) و خواندن میزان جذب نوری در طول موج 405 نانومتر با استفاده از دستگاه (ELISA reader) Enzyme-linked immunosorbent assay reader (Biotech, USA) به دست آمد. همچنین، رسوب کلسیم با استفاده از HCL 0.6N (HCL 0.6N) Hydrochloric acid 0.6 N جمع‌آوری شد و طبق دستور کیت مخصوص (پارس آزمون، ایران)، میزان جذب نوری در طول موج 630 نانومتر به دست آمد و با استفاده از منحنی استاندارد، میزان کلسیم موجود در هر نمونه محاسبه گردید. میزان تام



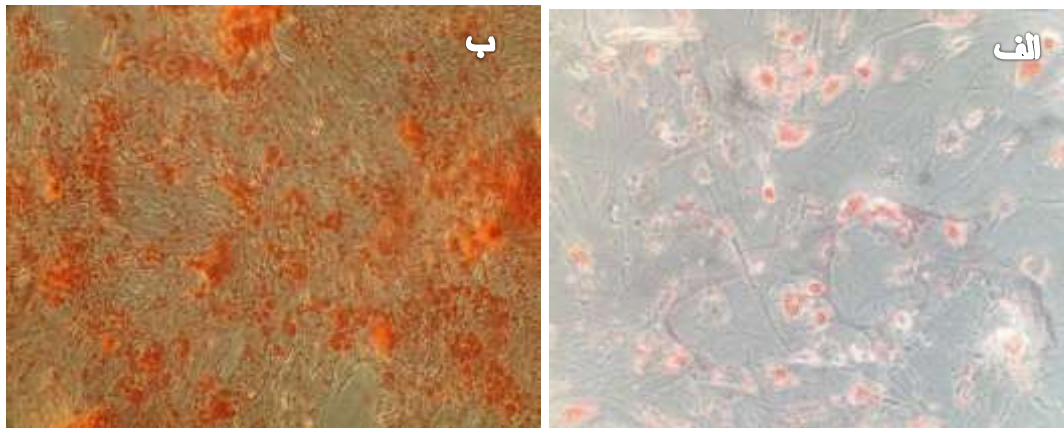
شکل ۱. سلول‌های استرومایی مزانشیمی جدا شده از بافت چربی انسانی در روز هفتم کشت پرایمری. بزرگ‌نمایی 10X

یا (hMSCs)، طبق روش پیش‌گفته، از بافت آدیپوز انسانی جداسازی و کشت داده شد و مورفولوژی سلول‌ها با میکروسکوپ معکوس مورد ارزیابی واقع گردید (شکل ۱).

نشانگرهای مزانشیمال و هماتوپوئیتیک با روش فلوسایتومتری و با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی مورد ارزیابی واقع گردید. میزان بیان نشانگر هماتوپوئیتیک CD34 و CD45 بسیار کم و در حدود ۱/۵ درصد و بیان نشانگر مزانشیمال CD105 و CD90 در حدود ۹۴ درصد به دست آمد (شکل ۲).



شکل ۲. میزان بیان نشانگرهای سطحی CD45 و CD34، CD105، CD90 در سلول‌های جدا شده از بافت چربی انسانی



شکل ۳. رنگ آمیزی اختصاصی الف) Oil red برای چربی، ب) Alizarin red برای استخوان. بزرگنمایی $10 \times$

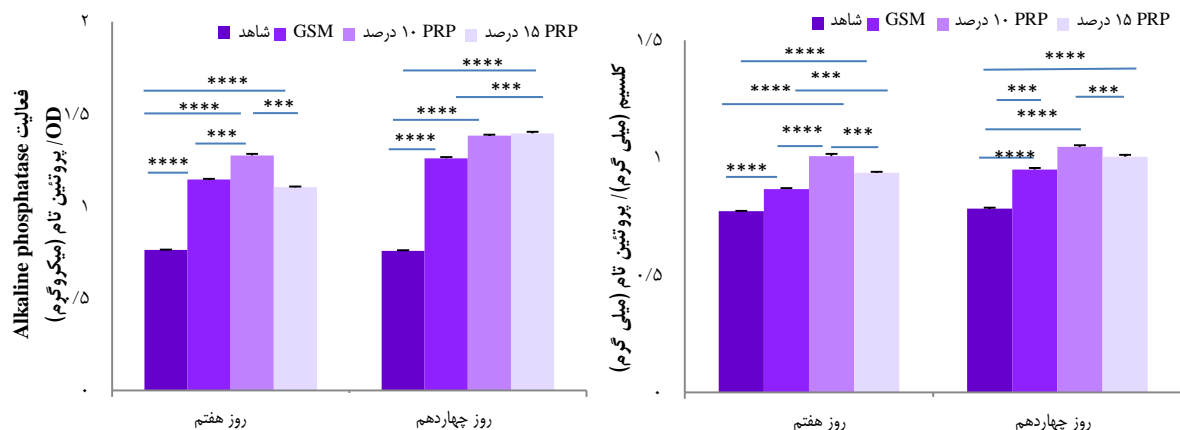
بیان ژن‌های 2 runt-related transcription factor (RUNX2) و Osteocalcin (OCN) نیز در روز هفتم تمایز به دست آمد که نتایج آن در شکل ۵ نشان داده شده است. بیان هر دو ژن که به عنوان نشانگرهای استئوژنیک مطرح هستند، در گروه PRP ۱۰ درصد نسبت به سایر گروه‌ها به طور معنی‌داری بالاتر بود.

بحث

روش استاندارد در بهبود آسیب‌های مادرزادی و اکتسابی استخوان، پیوند اتولوگ استخوان می‌باشد، اما مشکلات و محدودیت‌های این گونه جراحی‌ها، باعث شده است راهبردهای جدیدی بر پایه‌ی مهندسی استخوان توسعه پیدا کند. یکی از روش‌های پیشرفته‌ی مواد زیستی (Biomaterial)، مهندسی بافت استخوان (Bone tissue engineering) می‌باشد که از سلول‌های استرومایی مزانشیمی بهره می‌برد (۱۵).

جهت تأیید توان تمایزی سلول‌های مزانشیمی جدا شده از بافت چربی، پاساژ سوم این سلول‌ها طبق شرایط ذکر شده در بخش روش‌ها، تحت تیمار تمایزی چربی و استخوان واقع شد و رنگ آمیزی اختصاصی انجام شد (شکل ۳).

گروه‌های مختلف مطالعه شامل شاهد، Gold standard medium (GSM)، PRP ۱۰ درصد و PRP ۱۵ درصد، تحت تیمار واقع شدند و نتایج حاصل از روش‌های سنجش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و میزان کلسیم در شکل ۴ نمایش داده شده است (شکل ۴). رسوب‌گذاری کلسیم در گروه تیمار شده با PRP ۱۰ درصد نسبت به سایر گروه‌های مورد مطالعه افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) در روزهای هفتم و چهاردهم تمایز نشان داد و همچنین، میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز نیز در این گروه در روز هفتم تمایز نسبت به گروه‌های دیگر به طور معنی‌داری بالاتر بود؛ در حالی که در روز چهاردهم، بین این گروه و گروه PRP ۱۵ درصد، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.



شکل ۴. نمودار مربوط به فعالیت آنزیم Alkaline phosphatase (ALP) و میزان کلسیم در گروه‌های تمایزی. تغییر میزان رسوب‌گذاری کلسیم و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در غلظت‌های ۱۰ و ۱۵ درصد پلاسمای غنی از پلاکت (Platelet-rich plasma یا PRP) نسبت به گروه شاهد و گروه Gold standard medium (GSM) معنی‌دار بود ($P < 0/05$).

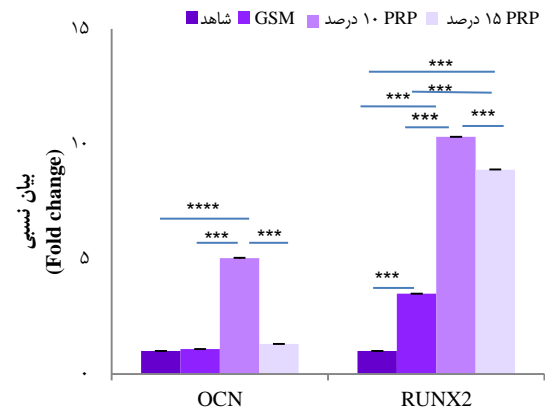
استاندارد بود و گروه با غلظت ۱۰ درصد نیز نسبت به غلظت ۱۵ درصد افزایش معنی داری در میزان کلسیم نشان داد. میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه PRP با غلظت ۱۰ درصد در روز هفتم نسبت به GSM بالاتر بود؛ در حالی که گروه PRP با غلظت ۱۵ درصد در این روز نسبت به گروه GSM فعالیتی کمتری نشان داد. در روز چهاردهم، همچنان میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه PRP ۱۰ درصد نسبت به گروه GSM بالاتر بود، اما اختلاف معنی داری با گروه PRP ۱۵ درصد نشان نداد. شاید دلیل این امر، آن باشد که فعالیت آنزیم Alkaline phosphatase (ALP) در گروه PRP ۱۵ درصد نسبت به دو گروه دیگر، دیرتر افزایش یافته است.

در طی روند تمایز برخی ژن‌ها مانند استئوکلسین و RUNX2 بیان می‌شوند و از این ژن‌ها به عنوان نشانگرهای ژنی تمایز استئوژنیک نام برده می‌شود. در این پژوهش، بیان این ژن‌ها در روز هفتم تمایز (روزهای میانی) سنجیده شد و همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، گروه GSM و گروه غلظتی ۱۵ درصد در روز هفتم افزایش بیان معنی داری در ژن استئوکلسین نداشتند؛ در صورتی که گروه PRP ۱۰ درصد در همان زمان افزایش بیان نشان داد.

افزایش بیان ژن RUNX2 در روز هفتم، در گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۱۰ و ۱۵ درصد PRP نسبت به گروه تیمار شده با محیط استاندارد تمایز استخوان، معنی دار بود و همچنین، گروه غلظتی ۱۰ درصد به طور معنی داری افزایش بیان بیشتری نسبت به گروه غلظتی ۱۵ درصد نشان داد.

در حالی که برخی پژوهش‌ها از وابسته به دوز بودن اثر PRP بر تمایز استخوان نام برده‌اند (۱۶)، نتایج پژوهش حاضر این گونه نبوده است و به طور کلی، با توجه به بالاتر بودن میزان رسوب‌گذاری کلسیم و فعالیت آنزیم ALP، غلظت ۱۰ درصد اثر بهتری بر تمایز استخوان نسبت به ۱۵ درصد دارد و داده‌های بیان ژن نیز تأیید کننده این روند می‌باشد که احتمال می‌رود شروع تمایز در گروه غلظتی ۱۰ درصد نسبت به سایر گروه‌ها زودتر رخ می‌دهد. در نتیجه، PRP فعال شده اثر آشکاری بر تحریک تمایز استخوانی سلول‌های hMSCs در برون‌تن دارد و می‌تواند کاربرد بالقوه‌ی این سلول‌ها را در بازسازی استخوان تسهیل نماید.

پیش از این نشان داده شده بود که پلاسمای غنی از پلاکت با دارا بودن انواعی از عوامل رشد، می‌تواند روند تمایز استئوژنیک را بهبود ببخشد و نتایج حاصل از این پژوهش نیز نشان داد که این کاتالیزور بیولوژیک، نه تنها باعث تمایز استخوانی سلول‌های مزانشیمی انسانی می‌شود، بلکه در غلظت‌های مختلف رفتار متفاوتی از خود نشان می‌دهد و می‌تواند مسیر تمایز به سمت استخوان را



شکل ۵. نمودار بیان ژن‌های Runt-related transcription factor 2 (RUNX2) و Osteocalcin (OCN) در روز هفتم تمایز در گروه‌های شاهد، GSM (Gold standard medium) و غلظت‌های ۱۰ و ۱۵ درصد پلاسمای غنی از پلاکت (Platelet-rich plasma) یا PRP ($P < 0.05$)

برای این که بتوان از این سلول‌ها در مهندسی استخوان بهره برد، باید جزئیات مکانیزم‌های تنظیمی استئوژن (Osteogenesis) و راه‌های افزایش توان استئوژنیک سلول‌های مزانشیمی مشخص شود. پژوهش‌ها نشان داده است که استفاده از PRP، می‌تواند تمایزی سلول‌های ASCs را افزایش دهد.

نتایج فلوسایتومتری بر روی سلول‌های جدا شده از بافت چربی انسانی، بیان بالای نشانگرهای مزانشیمال و بیان جزئی نشانگرهای هماتوپوئیتیک را در این پژوهش نشان داد. همچنین، هم‌راستا با سایر پژوهش‌ها مبنی بر توان چند بعدی MSCs، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد جمعیت سلولی که از بافت چربی انسانی با روش پیش گفته جداسازی شدند، زمانی که با محیط اختصاصی چربی و استخوان کشت داده شدند، توان تمایزی به رده‌های چربی و استخوان نشان می‌دهند (شکل ۲).

در حالی که برخی پژوهش‌ها، پلاسمای غنی از پلاکت را به همراه محیط استاندارد تمایز استخوان جهت القای تمایز به کار می‌برند (۱۷-۱۶)، مزیت پژوهش حاضر در کاربرد پلاسمای غنی از پلاکت بدون اضافه کردن هر گونه محرک تمایز استئوژنیک مانند بتا گلیسرول فسفات، دگزامتازون و یا اسکوربیک اسید می‌باشد. در این پژوهش، نشان داده شد که حتی در غیاب محیط تمایزی استخوان، PRP به تنهایی باعث تمایز استئوبلاست شد. همچنین، مشخص گردید که فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و رسوب‌گذاری کلسیم در گروه‌های PRP نسبت به گروه GSM، بالاتر است؛ به طوری که در روز هفتم از زمان شروع تمایز، میزان Calcium deposition در دو گروه PRP ۱۰ و ۱۵ درصد، به طور معنی داری بالاتر از گروه

تشکر و قدردانی

از دانشگاه‌های شهید چمران و علوم پزشکی جندی شاپور اهواز به دلیل حمایت‌های علمی - آزمایشگاهی و مالی در اجرای این مطالعه سپاسگزاری می‌گردد.

دستخوش تغییر نماید و با توجه به این موضوع که PRP یک روش درمان نویدبخش برای آینده است، پیشنهاد می‌شود مکانیسم‌های مولکولی و چگونگی تأثیر پلاسمای غنی از پلاکت بر تمایز سلول‌های مزانشیمال در این غلظت بهینه شده، بررسی شود.

References

- Garg P, Mazur MM, Buck AC, Wandtke ME, Liu J, Ebraheim NA. prospective review of mesenchymal stem cells differentiation into osteoblasts. *Orthop Surg* 2017; 9(1): 13-9.
- Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok IV. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning in vitro and retransplantation in vivo. *Transplantation* 1974; 17(4): 331-40.
- Saeed H, Ahsan M, Saleem Z, Iqtedar M, Islam M, Danish Z, et al. Mesenchymal stem cells (MSCs) as skeletal therapeutics - an update. *J Biomed Sci* 2016; 23: 41.
- Knight MN, Hankenson KD. Mesenchymal stem cells in bone regeneration. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2013; 2(6): 306-16.
- Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury* 2005; 36(12): 1392-404.
- Dimond L. Blood platelets in the treatment of disease. *Br Med J* 1914; 2(2811): 828-9.
- Schwartz-Arad D, Levin L, Aba M. The use of platelet rich plasma (PRP) and platelet rich fibrin (PRF) extracts in dental implantology and oral surgery. *Refuat Hapeh Vehashinayim (1993)* 2007; 24(1): 51-5, 84. [In Hebrew].
- Ross R, Glomset J, Kariya B, Harker L. A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974; 71(4): 1207-10.
- Yoshida K, Sumita Y, Marukawa E, Harashima M, Asahina I. Effect of platelet-rich plasma on bone engineering with an alloplastic substitute containing BMP2. *Biomed Mater Eng* 2013; 23(3): 163-72.
- Drago L, Bortolin M, Vassena C, Taschieri S, Del Fabbro M. Antimicrobial activity of pure platelet-rich plasma against microorganisms isolated from oral cavity. *BMC Microbiol* 2013; 13: 47.
- El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, et al. Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *J Periodontol* 2007; 78(4): 661-9.
- Fernandes G, Yang S. Application of platelet-rich plasma with stem cells in bone and periodontal tissue engineering. *Bone Res* 2016; 4: 16036.
- Rodriguez IA, Growney Kalaf EA, Bowlin GL, Sell SA. Platelet-rich plasma in bone regeneration: engineering the delivery for improved clinical efficacy. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 392398.
- Pakfar A, Irani S, Hanaee-Ahvaz H. Expressions of pathologic markers in PRP based chondrogenic differentiation of human adipose derived stem cells. *Tissue Cell* 2017; 49(1): 122-30.
- Majumdar MK, Thiede MA, Haynesworth SE, Bruder SP, Gerson SL. Human marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) express hematopoietic cytokines and support long-term hematopoiesis when differentiated toward stromal and osteogenic lineages. *J Hematother Stem Cell Res* 2000; 9(6): 841-8.
- Xu FT, Li HM, Yin QS, Liang ZJ, Huang MH, Chi GY, et al. Effect of activated autologous platelet-rich plasma on proliferation and osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells in vitro. *Am J Transl Res* 2015; 7(2): 257-70.
- Tavakolinejad S, Khosravi M, Mashkani B, Ebrahimzadeh BA, Sanjar MN, Parizadeh MR, et al. The effect of human platelet-rich plasma on adipose-derived stem cell proliferation and osteogenic differentiation. *Iran Biomed J* 2014; 18(3): 151-7.

The Effect of Various Platelet-Rich Plasma Concentrations on Osteoblast Differentiation in Human Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells

Maryam Cheraghzadeh¹, Alireza Kheirollah², Hana Hanaee-Ahvaz³, Hamid Galehdari⁴

Original Article

Abstract

Background: Mesenchymal stromal cells (MSCs) are stem cells with high differentiation potential that have been investigated for bone differentiation both in vivo and in vitro during the last decade. It was shown that platelet-rich plasma (PRP) can accelerate bone formation. Due to limitation of human studies in this field, and unknown appropriate concentration of platelet-rich plasma, this study compared the effect of applicable concentration of platelet-rich plasma on osteoblast differentiation in mesenchymal stromal cells.

Methods: Mesenchymal stromal cells were isolated from human adipose tissue and differentiated into osteoblasts. The effects of 10% and 15% of platelet-rich plasma on bone differentiation evaluate via measuring biochemical markers like alkaline phosphatase activity and calcium deposition. The expression of RUNX2 and osteocalcin genes were calculated using real-time polymerase chain reaction.

Findings: Compared to other groups, when treated by 10% platelet-rich plasma, human adipose-derived cells, having the potential to differentiate to adipocyte and osteoblast cell lines, showed significant increase in osteoblast differentiation rate, expression of gene markers, enzyme activity, and mineralization.

Conclusion: Activated platelet-rich plasma as a biological catalyst has different and significant effect on bone differentiation of human mesenchymal stromal cells (hMSCs) in different concentration; so, the onset of osteogenic differentiation in 10% platelet-rich plasma was observed earlier than other groups. Further investigations in this field can improve its clinical application in bone remodeling.

Keywords: Platelet-rich plasma, Mesenchymal stromal cells, Cell differentiation, Osteoblasts

Citation: Cheraghzadeh M, Kheirollah A, Hanaee-Ahvaz H, Galehdari H. **The Effect of Various Platelet-Rich Plasma Concentrations on Osteoblast Differentiation in Human Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(466): 56-63.

1- PhD Student, Department of Genetics, School of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- Associate Professor, Department of Biochemistry, School of Medicine AND Cellular and Molecular Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

3- Assistant Professor, Stem Cell Technology Research Center, Tehran, Iran

4- Professor, Department of Genetics, School of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Hamid Galehdari, Email: galehdari187@yahoo.com

بررسی مقایسه‌ای تأثیر پیش‌گیرانه‌ی تجویز وریدی کتامین یا پاراستامول در کنترل درد بعد از عمل جراحی فتق دیسک بین مهره‌های کمری به روش بیهوشی نخاعی

غلامرضا خلیلی^۱، زهرا فرهادیه^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مطالعه‌ی حاضر، با هدف مقایسه‌ی تأثیر پیش‌گیرانه‌ی تجویز وریدی کتامین یا پاراستامول در کنترل درد بعد از عمل جراحی فتق دیسک بین مهره‌های کمری به روش بیهوشی نخاعی انجام گرفت.

روش‌ها: در یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی، ۷۵ بیمار تحت عمل جراحی دیسک کمر در سه گروه ۲۵ نفره تقسیم شدند. گروه اول قبل از شروع عمل، ۱ گرم پاراستامول وریدی در مدت ۱۰ دقیقه؛ گروه دوم کتامین به میزان ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه سوم، نرمال سالین با حجم مشابه به روش وریدی دریافت کردند. شدت درد و دیگر عوارض بعد از عمل، بین سه گروه ارزیابی و مقایسه شد.

یافته‌ها: میانگین شدت درد به ترتیب در سه گروه پاراستامول، کتامین و شاهد در زمان ورود به ریکاوری $0/87 \pm 1/62$ ، $1/15 \pm 1/64$ و $2/52 \pm 1/64$ (P = ۰/۰۱۸) بود، در دقیقه‌ی ۳۰ ریکاوری به ترتیب $1/18 \pm 1/84$ ، $1/10 \pm 1/76$ و $3/72 \pm 1/97$ (P < ۰/۰۰۱) بود، در دقیقه‌ی ۶۰ ریکاوری به ترتیب $1/18 \pm 1/84$ ، $1/12 \pm 1/92$ و $3/72 \pm 1/65$ بود (P < ۰/۰۰۱) و اختلاف بین سه گروه، معنی‌دار بود. همچنین، روند تغییرات شدت درد تا دقیقه‌ی ۶۰ ریکاوری بین سه گروه متفاوت بود و گروه شاهد شدت درد بالاتری را تجربه کردند (P = ۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: استفاده از پاراستامول، دارای تأثیر مناسبی در کنترل درد بعد از عمل جراحی دیسک ستون فقرات است و از آن جایی که پاراستامول یک داروی کم‌عارضه و در اغلب بیماران قابل استفاده است، استفاده از آن نسبت به کتامین ارجح می‌باشد.

واژگان کلیدی: درد بعد از عمل، کتامین، پاراستامول، دیسک کمر

ارجاع: خلیلی غلامرضا، فرهادیه زهرا. بررسی مقایسه‌ای تأثیر پیش‌گیرانه‌ی تجویز وریدی کتامین یا پاراستامول در کنترل درد بعد از عمل جراحی فتق دیسک بین مهره‌های کمری به روش بیهوشی نخاعی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۶): ۶۹-۶۴

مقدمه

می‌باشد. همچنین، قبل از تجویز ضد درد، باید وضعیت فیزیکی بیمار، سن، میزان اضطراب، اولویت شخصی و پاسخ به دارو در نظر گرفته شود (۳).

ناموفق بودن کنترل درد بعد از عمل جراحی در بیمار، می‌تواند مجموعه‌ای از عوارض نامطلوب از جمله مشکلات روحی- روانی، اختلالات اتونوم (نظیر افزایش ضربان قلب، فشار خون و سرکوب حرکات گوارشی)، کاهش حرکت (به علت ضعف عضلات و مفاصل)، مشکلات اندوکراین، روانی و اختلالات رفتاری (افسردگی، اضطراب و درماندگی) را به وجود بیاورد (۴). کنترل ناکافی و نامناسب درد بعد از عمل (طولانی مدت بودن درد در دوران پس از

درد بعد از عمل جراحی، نوعی درد حاد است که در پی ترومای جراحی با یک واکنش التهابی و آزدگی پی در پی یک عصب آوران شروع می‌شود و با بهبود یافتن بافت به اتمام می‌رسد (۱). این درد، تحت تأثیر عوامل مختلف فرهنگی، اجتماعی و روحی- روانی بیمار قرار می‌گیرد. همچنین، بیماران تصور می‌کنند درد پس از عمل، ناهنجارترین جنبه‌ی اعمال و فرایندهای جراحی می‌باشد (۲). به علاوه، این بیماران ممکن است پیشینه‌ی مصرف طولانی مدت داروهای نارکوتیک را داشته باشند و به این داروها مقاومت نشان دهند (۳). در نتیجه، ارزیابی فردی درد و درمان ضد درد لازم

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی پزشکی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: z_farhadieh@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤؤل: زهرا فرهادیه

حداقل تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها که به مقدار ۰/۸ منظور گردید، به تعداد ۲۵ بیمار در هر گروه برآورد شد.

شیوه‌ی کار به این صورت بود که بعد از اخذ مجوز از کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه، ۷۵ بیمار در سه گروه مورد مطالعه قرار گرفتند. تجویز دارو توسط یک نفر و جمع‌آوری اطلاعات توسط فرد دومی که از نوع داروی تجویزی بی‌اطلاع بود، انجام گرفت.

بیماران به ترتیب ورود به اتاق عمل به روش تخصیص تصادفی در سه گروه ۲۵ نفره توزیع شدند. قبل از شروع عمل جراحی، در یک گروه از بیماران ۱ گرم پاراستامول به صورت داخل وریدی در مدت ۱۰ دقیقه تزریق شد. در گروه دوم، کتامین به میزان ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در گروه سوم، نرمال‌سالین با حجم مشابه به روش وریدی تزریق گردید.

تمام بیماران در زمان ورود به اتاق عمل قبل از انجام بیهوشی نخاعی، ۱۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم سرم رینگر دریافت کردند و بیمار در وضعیت نشسته با نیندل ۲۲ یا ۲۳ از فضای L2-L3 یا L3-L4 با ۳/۵ میلی‌لیتر مارکائین ۰/۵ درصد تحت بیهوشی نخاعی قرار گرفتند و بعد از تجویز داروهای پیش‌گفته و اطمینان از موفقیت بیهوشی نخاعی با سطح بلوک مناسب، بیمار در وضعیت پرون قرار گرفت و عمل جراحی انجام شد.

شدت درد بعد از عمل با استفاده از معیار دیداری درد (Visual analog scale) اندازه‌گیری شد که نحوه‌ی آن قبل از شروع عمل به طور کامل برای بیمار توضیح داده شد. در حین عمل جراحی، علائم حیاتی بیمار شامل ضربان قلب، فشار خون و تعداد تنفس از زمان پایه تا پایان عمل هر ۱۰ دقیقه چک شد و در فرم جمع‌آوری اطلاعات، ثبت گردید.

بعد از اتمام عمل، شدت درد بیماران از بدو ورود به ریکاوری هر نیم ساعت تا زمان ترخیص از ریکاوری و در ساعات ۴، ۶، ۱۲ و ۲۴ بعد از عمل با معیار VAS چک و ثبت شد. در صورتی که بیمار در ریکاوری و یا بخش درد بالاتر از ۳ داشت، ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پتیدین دریافت می‌کرد و اولین زمان دریافت مخدر نیز در پرسش‌نامه ثبت شد. دیگر اطلاعات مورد نیاز شامل سن، جنس، وزن و علائم همودینامیک بیمار شامل ضربان قلب، فشار خون و درصد اشباع اکسیژن در زمان‌های پیش‌گفته و میزان مخدر مصرفی ۲۴ ساعته نیز در پرسش‌نامه ثبت شد.

در پایان، داده‌های به دست آمده، وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۴ (version 24, IBM Corporation, Armonk, NY) شد و با آزمون‌های آماری One-way ANOVA، χ^2 و Repeated measures ANOVA تجزیه و تحلیل گردید.

عمل می‌تواند باعث حساس شدن سیستم عصبی مرکزی و محیطی شود (۴).

بیشتر بیمارانی که تحت عمل جراحی ستون فقرات قرار گرفته‌اند، یک درد متوسط تا شدید را گزارش می‌کنند که حداقل ۳-۴ روز ابتدایی پس از عمل وجود دارد. این درد، با تعداد مهره‌های جراحی شده و میزان تهاجمی بودن جراحی متناسب می‌باشد (۵).

به علت پیچیده بودن مشکل درد پس از عمل، رویکرد درمان به گونه‌ای است که از ترکیب روش‌های درمانی با مکانیسم‌های مختلف مهار درد استفاده می‌شود تا اثر ضد درد را افزایش و عوارض جانبی را کاهش دهد (۶-۷). طی مطالعاتی که در گذشته انجام شده است، کنترل این درد بیشتر اوقات کار مشکلی است و می‌تواند پایدار باشد که یکی از مهم‌ترین علل مرگ و میر بعد از عمل و مشکلات کاری متخصصین بیهوشی بوده است.

امروزه استامینوفن وریدی به صورت معمول به عنوان ضد درد برای اعمال جراحی استفاده می‌شود. کتامین نیز طی چندین دهه‌ی اخیر به عنوان تسکین دهنده‌ی درد استفاده شده است. از این رو، با توجه به شیوع بالای اعمال جراحی دیسک کمر و مصرف بالای استامینوفن و کتامین در جهت کنترل درد بعد از عمل، مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی تأثیر پیش‌گیرانه‌ی این دو دارو بر درد بعد از عمل فتق دیسک بین مهره‌ای به انجام رسید.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر، یک پژوهش کارآزمایی بالینی دو سو کور می‌باشد که در سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ در بیمارستان‌های الزهرا (س) و آیت‌اله کاشانی اصفهان انجام شد. جامعه‌ی هدف مطالعه، افراد کاندیدای عمل جراحی دیسک کمر به روش بیهوشی نخاعی بودند.

معیارهای ورود به مطالعه، شامل بیماران کاندیدای عمل جراحی فتق دیسک بین مهره‌ای به روش بیهوشی نخاعی با ASA American Society of Anesthesiologists درج‌ات ۱ و ۲، عدم نیاز به فیورژن مهره‌های کمری و همچنین، موافقت فرد برای شرکت در مطالعه بود.

همچنین، طولانی شدن عمل جراحی (بیش از ۲ ساعت) و نیاز به تغییر روش بیهوشی حین عمل، به عنوان معیارهای خروج از مطالعه در نظر گرفته شد.

نمونه‌گیری بیماران به روش آسان بود و حجم نمونه‌ی مورد نیاز، با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، توان آزمون ۸۰ درصد، انحراف معیار شدت درد بعد از عمل که معادل ۱ در نظر گرفته شد و

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار سن، وزن و مدت عمل در سه گروه

متغیر	پاراستامول	کتامین	شاهد	مقدار P
میانگین سن (سال)	۴۸/۲۰ ± ۱۲/۲	۴۶/۵۰ ± ۹/۰۰	۴۷/۰۰ ± ۱۳/۵۰	۰/۸۶۰
میانگین وزن (کیلوگرم)	۷۲/۳۰ ± ۶/۹۰	۷۵/۹۰ ± ۹/۴۰	۷۲/۱۰ ± ۹/۳۰	۰/۲۲۰
مدت عمل (ساعت)	۱/۱۷ ± ۰/۳۱	۱/۱۸ ± ۰/۳۵	۱/۱۷ ± ۰/۳۱	۰/۱۹۰
جنس [تعداد (درصد)]	مرد ۱۶ (۶۴)	۱۹ (۷۶)	۱۵ (۶۰)	۰/۴۶۰
	زن ۹ (۳۶)	۶ (۲۴)	۱۰ (۴۰)	

گروه، معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۰۱$). در دقیقه‌ی ۶۰ ریکاوری نیز شدت درد در سه گروه به ترتیب $۱/۱۸ ± ۱/۸۴$ ، $۱/۱۲ ± ۱/۹۲$ و $۱/۶۵ ± ۳/۷۲$ و اختلاف بین سه گروه، معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۰۱$). بر حسب آزمون تعقیبی Scheffe، اختلاف میانگین شدت درد در هر سه زمان، بین گروه شاهد، کتامین و پاراستامول معنی‌دار بود، اما اختلاف معنی‌دار بین دو گروه پاراستامول و کتامین دیده نشد. همچنین، بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA، روند تغییرات شدت درد تا دقیقه‌ی ۶۰ ریکاوری بین سه گروه متفاوت بود و گروه شاهد شدت درد بالاتری داشتند ($P < ۰/۰۰۱$) (جدول ۲).

میانگین اولین زمان دریافت مخدر در سه گروه پاراستامول، کتامین و شاهد به ترتیب $۱۲/۱ ± ۳۸/۶$ ، $۲۲/۹ ± ۳۷/۵$ و $۸/۹ ± ۲۰/۷$ دقیقه بود، اما اختلاف معنی‌داری بین سه گروه دیده نشد ($P = ۰/۰۸۰$).

میانگین مدت اقامت در ریکاوری در سه گروه پاراستامول، کتامین و شاهد به ترتیب $۲/۱۸ ± ۰/۵۷$ ، $۲/۴۴ ± ۱/۳۸$ و $۱/۴۲ ± ۰/۴۷$ ساعت و اختلاف سه گروه معنی‌دار نبود و گروه پاراستامول، مدت اقامت طولانی‌تری در ریکاوری داشتند ($P < ۰/۰۰۱$).

بررسی عوارض بعد از عمل در بیماران مورد مطالعه نشان داد که در مجموع، ۲۵ نفر دچار تهوع و استفراغ بعد از عمل شدند که ۱۱ مورد (۴۴ درصد) از گروه پاراستامول، ۵ مورد (۲۰ درصد) از گروه کتامین و ۹ مورد (۳۶ درصد) از گروه شاهد بودند، اما اختلاف معنی‌داری بین سه گروه دیده نشد ($P = ۰/۰۲۳$).

یافته‌ها

در این مطالعه، ۷۵ بیمار تحت عمل جراحی دیسک کمر در سه گروه ۲۵ نفره‌ی دریافت‌کننده‌ی پاراستامول، کتامین و شاهد مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. در خلال مطالعه، هیچ بیماری از مطالعه خارج نشد. برابر جدول ۱، بیماران سه گروه از نظر سن، وزن و مدت زمان عمل اختلاف معنی‌داری نداشتند.

بررسی پارامترهای همودینامیک قبل از بیهوشی تا پایان ریکاوری، اختلاف معنی‌داری را بین سه گروه نشان نداد.

بر حسب نتایج به دست آمده، در زمان ورود به ریکاوری ۱۱ نفر درد متوسط تا شدید داشتند ($VAS > ۳$) داشتند که ۲ نفر (۸ درصد) از گروه پاراستامول، ۲ نفر (۸ درصد) از گروه کتامین و ۷ نفر (۲۸ درصد) از گروه شاهد بودند، اما تفاوت بین سه گروه معنی‌دار نبود ($P = ۰/۰۹۰$). در دقایق ۳۰ و ۶۰ ریکاوری، ۲۴ نفر درد داشتند که به ترتیب ۵ نفر (۲۰ درصد)، ۳ نفر (۱۲ درصد) و ۱۶ نفر (۶۴ درصد) از سه گروه پاراستامول، کتامین و شاهد بودند و اختلاف سه گروه معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۰۱$).

طبق نتایج به دست آمده، میانگین شدت درد زمان ورود به ریکاوری در سه گروه پاراستامول، کتامین و شاهد به ترتیب $۰/۸۷ ± ۱/۶۰$ ، $۱/۱۵ ± ۱/۶۴$ و $۲/۵۲ ± ۱/۶۴$ بود و تفاوت معنی‌داری بین سه گروه مشاهده شد ($P = ۰/۰۱۸$). میانگین شدت درد در دقیقه‌ی ۳۰ ریکاوری در سه گروه پیش‌گفته به ترتیب $۱/۱۸ ± ۱/۸۴$ ، $۱/۱۰ ± ۱/۷۶$ و $۱/۹۷ ± ۳/۷۲$ و اختلاف بین سه

جدول ۲. میانگین و انحراف شدت درد بعد از عمل در سه گروه

متغیر	پاراستامول	کتامین	شاهد	مقدار P
شدت درد در بدو ورود به ریکاوری	۱/۶۰ ± ۰/۸۷	۱/۶۴ ± ۱/۱۵	۲/۵۲ ± ۱/۶۴	۰/۰۱۸
شدت درد در دقیقه‌ی ۳۰ ریکاوری	۱/۸۴ ± ۱/۱۸	۱/۷۶ ± ۱/۱۰	۳/۷۲ ± ۱/۹۷	< ۰/۰۰۱
شدت درد در دقیقه‌ی ۶۰ ریکاوری	۱/۸۴ ± ۱/۱۸	۱/۹۲ ± ۱/۱۲	۳/۷۲ ± ۱/۶۵	< ۰/۰۰۱
اولین زمان دریافت مخدر	۳۸/۶۰ ± ۱۲/۱۰	۳۷/۵۰ ± ۲۲/۹۰	۲۰/۷۰ ± ۸/۹۰	۰/۰۸۰
مدت اقامت در ریکاوری	۲/۱۸ ± ۰/۵۷	۱/۳۸ ± ۰/۴۴	۱/۴۷ ± ۰/۴۲	< ۰/۰۰۱

بحث

درد بعد از عمل، یک چالش جدی در بیماران تحت اعمال جراحی دیسک بین مهره‌ای محسوب می‌گردد؛ چرا که بروز درد منجر به تلاش بیمار در تغییر وضعیت به منظور تسکین درد می‌گردد که این واکنش‌ها و حرکات، می‌تواند منجر به ایجاد عارضه در موضع عمل گردد و روند بهبودی را دچار مشکل کند. از این رو، همواره تلاش شده است تا بیماران کمترین میزان درد بعد از عمل را تجربه کنند. استفاده از ضد دردهای مخدر و غیر مخدر، از جمله روش‌هایی هستند که به این منظور مورد استفاده قرار گرفته‌اند، اما با وجود تحقیقات انجام گرفته، هنوز دارو یا روش واحدی برای این منظور ارایه نشده است.

از طرف دیگر، استفاده از مخدرها در این قبیل بیماران که به طور معمول در سنین میان‌سالی و یا کهن‌سالی قرار دارند، محدودیت مصرف دارد. مطالعات و بررسی‌های قبلی نشان داده است استفاده از استامینوفن و کتامین تزریقی، می‌تواند تا حدودی در کاهش درد بعد از عمل مؤثر باشد و از آن جایی که اعمال جراحی ستون فقرات به ویژه عمل دیسک بین مهره‌ای به طور شایع در مراکز درمانی انجام می‌گیرد، این مطالعه با هدف مقایسه‌ی تأثیر تزریق وریدی پیش‌گیرانه‌ی کتامین یا پاراستامول در کنترل درد بعد از عمل جراحی فتق دیسک بین مهره‌ای کمری به روش بی‌هوشی نخاعی و مقایسه‌ی آن با گروه شاهد در اتاق عمل مراکز پزشکی الزهرا (س) و آیت‌اله کاشانی اصفهان انجام شد.

سه گروه مورد مطالعه، از نظر متغیرهای دموگرافیک نظیر توزیع سنی و جنسی، مدت زمان بی‌هوشی، مدت عمل، وزن و سطح دیسک مورد عمل اختلاف معنی‌داری نداشتند و اثر مخدوش‌کننده‌ی آن‌ها بر روی همودینامیک و عوارض بعد از عمل، نظیر شدت درد مشاهده نشد. از این رو، به احتمال زیاد، تفاوت‌های مشاهده شده بین سه گروه، مربوط به نوع داروی مورد استفاده بوده است.

بررسی پارامترهای همودینامیک بیماران در طی مدت عمل و ریکاوری، تفاوت معنی‌داری را بین سه گروه نشان نداد و در خلال مطالعه، موردی از اختلال شدید همودینامیک که منجر به دخالت پزشکی و یا خروج بیمار از مطالعه گردد، مشاهده نشد. از این رو، به نظر می‌رسد استفاده از کتامین و پاراستامول در بیماران تحت عمل جراحی دیسک کمر سالم و بی‌ضرر باشد.

برابر نتایج مطالعه‌ی حاضر، بیماران دریافت‌کننده‌ی پاراستامول و کتامین، شدت درد بعد از عمل کمتری نسبت به گروه شاهد داشتند و مدت زمان بی‌دردی در آنان بیشتر بود، اما اختلاف معنی‌داری بین کتامین و پاراستامول دیده نشد و از آن جایی که پاراستامول داروی کم‌عارضه‌تری نسبت به کتامین می‌باشد، احتمال می‌رود این دارو، در

تسکین درد بعد از عمل دیسک کمر، نسبت به پاراستامول ارجحیت داشته باشد. همچنین، میزان بروز تهوع و استفراغ بعد از عمل در سه گروه اختلاف معنی‌داری نداشت.

برخی مطالعات قبلی نیز نشان داده است که استفاده از پاراستامول با کنترل مناسب درد بعد از عمل همراه می‌باشد. در مطالعه‌ی رحمانیان و همکاران، نشان داده شد که استفاده از ۰/۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم کتامین بعد از بی‌هوشی نخاعی در خانم‌های بارداری که تحت عمل جراحی سزارین قرار می‌گیرند، میزان نیاز آن‌ها به داروهای تسکین‌دهنده‌ی درد را کاهش می‌دهد و عوارض جانبی کمتری نسبت به استفاده از اپیوئیدها دارد (۸). Rivkin و Rivkin طی مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که درمان پیش‌گیرانه‌ی ضد درد در همراهی با عوامل غیر اپیوئیدی، مصرف نارکوتیک‌ها را کاهش می‌دهد و رضایت بیماران بعد از اعمال جراحی نخاعی را افزایش می‌دهد.

این نوع درمان، باید در بیمارانی که تحت اعمال جراحی مختلف ستون فقرات قرار می‌گیرند و سابقه‌ی کنترل مشکل درد پس از عمل دارند، در نظر گرفته شود (۹). در مطالعه‌ی ایمانی و همکاران، تأثیر اضافه کردن کتامین به فنتانیل و استامینوفن در کنترل درد بیمارانی که تحت اعمال جراحی شکم قرار می‌گیرند، بررسی و مشاهده شده است که عارضه‌ی تهوع ناشی از مصرف داروی تسکین‌دهنده‌ی درد در گروهی که کتامین مصرف کرده بودند، به طور چشم‌گیری کمتر بوده است، اما شدت درد بعد از عمل در دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشته است (۱۰).

در مطالعه‌ی دیگری که برای بررسی مقایسه‌ی تأثیر استامینوفن و کتامین بر درد پس از عمل جراحی هیسترتومی بر روی خانم‌های ۲۵-۷۰ ساله انجام شد، مشاهده گردید که شدت درد بعد از عمل در گروهی که استامینوفن وریدی دریافت کرده بودند، به طور چشم‌گیری کمتر از گروه دریافت‌کننده‌ی کتامین بود و به میزان خیلی کمتری به داروی تسکین‌دهنده‌ی درد در مقایسه با گروه دیگر احتیاج داشتند (۱۱). نتیجه‌گیری نهایی این که استفاده از پاراستامول، دارای تأثیر مناسبی در کنترل درد بعد از عمل جراحی دیسک ستون فقرات است و میزان تأثیر آن کمتر از کتامین نمی‌باشد. از این رو، از آن جایی که پاراستامول یک داروی کم‌عارضه است و در اغلب بیماران قابل استفاده است، استفاده از آن نسبت به کتامین ارجح می‌باشد. در عین حال، جهت اخذ نتیجه‌ی قابل‌تعمیم، پیشنهاد می‌گردد مطالعات بیشتری در این زمینه انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر، حاصل پایان‌نامه‌ی دکتری حرفه‌ای پزشکی عمومی

با حمایت‌های این معاونت انجام شده است. از این رو، نویسندگان مقاله از زحمات ایشان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

است که با شماره‌ی ۳۹۵۱۱۱ در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به تصویب رسیده و

References

1. Rudra A, Chatterjee S, Ray S, Ghosh S. Pain management after spinal surgery. *Indian J Pain* 2015; 29(1): 9-14.
2. Coley KC, Williams BA, DaPos SV, Chen C, Smith RB. Retrospective evaluation of unanticipated admissions and readmissions after same day surgery and associated costs. *J Clin Anesth* 2002; 14(5): 349-53.
3. Cohen BE, Hartman MB, Wade JT, Miller JS, Gilbert R, Chapman TM. Postoperative pain control after lumbar spine fusion. Patient-controlled analgesia versus continuous epidural analgesia. *Spine (Phila Pa 1976)* 1997; 22(16): 1892-6.
4. Bernard JM, Surbled M, Lagarde D, Trennec A. Analgesia after surgery of the spine in adults and adolescents. *Cah Anesthesiol* 1995; 43(6): 557-64. [In French].
5. Le Roux PD, Samudrala S. Postoperative pain after lumbar disc surgery: A comparison between parenteral ketorolac and narcotics. *Acta Neurochir (Wien)* 1999; 141(3): 261-7.
6. Popping DM, Zahn PK, Van Aken HK, Dasch B, Boche R, Pogatzki-Zahn EM. Effectiveness and safety of postoperative pain management: a survey of 18 925 consecutive patients between 1998 and 2006 (2nd revision): a database analysis of prospectively raised data. *Br J Anaesth* 2008; 101(6): 832-40.
7. Jellish WS, Abodeely A, Fluder EM, Shea J. The effect of spinal bupivacaine in combination with either epidural clonidine and/or 0.5% bupivacaine administered at the incision site on postoperative outcome in patients undergoing lumbar laminectomy. *Anesth Analg* 2003; 96(3): 874-80.
8. Rahmanian M, Leysi M, Hemmati AA, Mirmohammadhani M. The effect of low-dose intravenous ketamine on postoperative pain following cesarean section with spinal anesthesia: A randomized clinical trial. *Oman Med J* 2015; 30(1): 11-6.
9. Rivkin A, Rivkin MA. Perioperative nonopioid agents for pain control in spinal surgery. *Am J Health Syst Pharm* 2014; 71(21): 1845-57.
10. Imani F, Faiz HR, Sedaghat M, Hajiashrafi M. Effects of adding ketamine to fentanyl plus acetaminophen on postoperative pain by patient controlled analgesia in abdominal surgery. *Anesth Pain Med* 2014; 4(1): e12162.
11. Faiz HR, Rahimzadeh P, Visnjevac O, Behzadi B, Ghodraty MR, Nader ND. Intravenous acetaminophen is superior to ketamine for postoperative pain after abdominal hysterectomy: Results of a prospective, randomized, double-blind, multicenter clinical trial. *J Pain Res* 2014; 7: 65-70.

A Comparative Study on the Effect of Preemptive Ketamine and Paracetamol in the Control of Postoperative Pain in Lumbar Disc Herniation Surgeries under Spinal Anesthesia

Gholamreza Khalili¹, Zahra Farhadieh²

Original Article

Abstract

Background: The aim of this study was to compare the efficacy of preemptive ketamine with paracetamol in control of postoperative pain in lumbar disc herniation surgeries under spinal anesthesia.

Methods: In a clinical trial study, 75 patients undergoing lumbar disc surgery were randomly divided in three groups of 25 patients. Before surgery, in the first group, paracetamol (1 g) was intravenously injected during 10 minutes; in the second group, ketamine (0.2 mg/kg), and in the third group, normal saline was intravenously injected with the same volume. Pain intensity and other postoperative complications were compared between the three groups.

Findings: The mean intensity of postoperative pain in three groups of paracetamol, ketamine, and control was 1.62 ± 0.87 , 1.64 ± 1.15 , and 2.52 ± 1.64 ($P = 0.018$) at the entrance to recovery, 1.84 ± 1.18 , 1.76 ± 1.10 , and 3.72 ± 1.97 ($P < 0.001$) at the 30th minutes recovery, and 1.84 ± 1.18 , 1.92 ± 1.12 , and 3.72 ± 1.65 ($P < 0.001$) at the 60th minute recovery, respectively, and the differences between the three groups were significant. Besides, the trend of pain intensity up to 60 minutes of recovery were different between the three groups, and the control group had a higher pain intensity ($P = 0.001$).

Conclusion: The use of paracetamol has a good effect on postoperative pain management in spinal disk surgeries. Since paracetamol has low side effects, and is most commonly used by patients, it is preferable to ketamine.

Keywords: Postoperative pain, Ketamine, Paracetamol, Lumbar disc disease

Citation: Khalili G, Farhadieh Z. A Comparative Study on the Effect of Preemptive Ketamine and Paracetamol in the Control of Postoperative Pain in Lumbar Disc Herniation Surgeries under Spinal Anesthesia. J Isfahan Med Sch 2018; 36(466): 64-9.

1- Associate Professor, Anesthesiology and Critical Care Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Student of Medicine, Student Research Committee, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Zahra Farhadieh, Email: z_farhadieh@yahoo.com

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada; khosrow.adeli@sickkids.ca
2. **Ali Akhavan** MD, Assistant Professor of Radiation Oncology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran ali52akhavan@yahoo.com
3. **Mohammadreza Akhlaghi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; akhlaghi@med.mui.ac.ir
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran; aminr@sums.ac.ir
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran amra@med.mui.ac.ir
6. **Saeed A. Jortani** PhD, Professor of Pathology, University of Louisville, Louisville, KY, USA; sajort01@louisville.edu
7. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; bagherian@med.mui.ac.ir
8. **Majid Barekatin** MD, Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran barekatin@med.mui.ac.ir
9. **Ken Bassett** MD, PhD, Professor of Therapeutics Initiative, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada; bassett@chspr.ubc.ca
10. **Ahmad Chitsaz** MD, Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; chitsaz@med.mui.ac.ir
11. **Afsoon Emami-Naini** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; af_emami@med.mui.ac.ir
12. **Shahin Emami** Department of Biochemistry, Saint Antoine Hospital, Paris, France; shahin.emami@cgc.edu
13. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; esfandiari@med.mui.ac.ir
14. **Ahmad Esmailzadeh** PhD, Professor of Nutrition, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; esmaillzadeh@hlth.mui.ac.ir
15. **Ziba Farajzadegan** MD, Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; farajzadegan@med.mui.ac.ir
16. **Aziz Gahari** MD, Professor Plastic Surgery, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada; aziz.ghahary@ubc.ca
17. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; golshahi@med.mui.ac.ir
18. **Mostafa Hashemi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mostafahashemi60@gmail.com
19. **Saied Morteza Heidari** MD, Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m_heidari@med.mui.ac.ir
20. **Ali Hekmatnia** MD, Professor of Radiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; hekmatnia@med.mui.ac.ir
21. **Fariba Iraj** MD, Professor of Dermatology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; iraji@med.mui.ac.ir
22. **Faramarz Ismail-Beigi** MD, PhD, Professor of Endocrinology, University Hospitals Cleveland Medical Center, Cleveland, OH, USA; faramarz.ismail-beigi@case.edu
23. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; kelishadi@med.mui.ac.ir
24. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics and Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; khani@med.mui.ac.ir
25. **Majid Kheirollahi** PhD, Associate Professor of Genetics and Molecular Biology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mkheirollahi@med.mui.ac.ir
26. **Parvin Mahzouni** MD, Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mahzouni@med.mui.ac.ir
27. **Marjan Mansourian** PhD, Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; j_mansourian@hlth.mui.ac.ir
28. **Mohammad Mardani** MD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mardani@med.mui.ac.ir
29. **Mehdi Modarres-Zadeh** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; mmodarres51@yahoo.com
30. **Etie Moghisi** MD, Associate Professor of Endocrinology, Marina Diabetes and Endocrinology Center, Marina del Rey, CA, USA; emoghissi@gmail.com
31. **Mohammadreza Nourbakhsh** PhD, Professor of Physiotherapy, North Georgia College, Dahlonega, GA, USA; reza.nourbakhsh@ung.edu
32. **Farzin Pourfarzad** PhD, Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands; f.pourfarzad@erasmusmc.nl
33. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m_pourmoghadas@med.mui.ac.ir
34. **Maryam Radahmadi** PhD, Assistant Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m_radahmadi@med.mui.ac.ir
35. **Hassan Razmjou** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; razmjou@med.mui.ac.ir
36. **Reza Rouzbahani** MD, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; rouzbahani@med.mui.ac.ir
37. **Masih Saboori** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; saboori@edc.mui.ac.ir
38. **Mohammad Reza Safavi** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; safavi@med.mui.ac.ir
39. **Rasoul Salehi** PhD, Assistant Professor of Genetics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; r_salehi@med.mui.ac.ir
40. **Mansour Sholevar** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; sholevar@med.mui.ac.ir
41. **Mohammadreza Sharifi** MD, PhD, Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; sharifi@med.mui.ac.ir
42. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran; masoud_soheilian@yahoo.com



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 36, No. 466, 2nd Week April 2018

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

Associate Editor: **Maryam Radahmadi PhD**

Owner:

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

Office:

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

Executive Manager: Ali Moradi, Office Secretary: Golnaz Rajabi

Publisher:

Vesnu Publications

Email: farapublications@gmail.com
<http://farapub.com>

Tel/fax: +98 31 32224382
Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexers

- 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.