



مقاله های پژوهشی

- ۲۶۷ بررسی اثر مکمل یاری ویتامین D بر میزان شاخص های لیپیدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی
 مهدی فروغی، زهرا مقصودی، دکتر رضا غیاثوند، دکتر بیژن ایرج، دکتر غلامرضا عسکری
- ۲۷۵ عوامل مربوط به کیفیت زندگی مرتبط با سلامت در بیماران مبتلا به انسداد مزمن ریه
 نسرین فدایی اقدم، اکرم سادات منتظری، دریا دخت مسرور، رقیه علیاری، اعظم حمیدزاده
- ۲۸۷ بررسی اثر بخشی ونلافاکسین و توپیرامات در کاهش سردردهای میگرنی در بیماران با Electroencephalogram غیرطبیعی
 دکتر فریبرز خوروش، صالحه عباسیان، علی مهرابی کوشکی، دکتر مجید قاسمی
- ۲۹۴ بررسی تأثیر عصاره‌ی رازیانه در پیش‌گیری از اختلال حافظه‌ی ناشی از اسکوپولامین در موش سوری نر
 دکتر آزاده مصری پور، زهرا علی بابایی، عاطفه عمادی، دکتر محمد رضا حجتی
- ۳۰۵ تولید لنتی ویروس اینتگرز منفی به منظور بیان گذرای پروتئین مورد نظر و کاهش اثرات جانبی ویروس در ژن درمانی
 لاله شریعتی، زهرا محمدی، زهرا حجازی، مهرا ن مدرس، دکتر منصور صالحی، دکتر محمد حسین مدرسی، دکتر حسین خان احمد

Original Articles

- The Effect of Vitamin D Supplementation on Markers of Lipid Levels in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver 274
 Mehdi Foroughi MSc, Zahra Maghsoudi MSc, Reza Ghiasvand PhD, Bijan Iraj MD, Gholamreza Askari PhD
- Factors Associated with Health-Related Quality of Life in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease 286
 Nasrin Fadaeeaghdam MSc, Akram Sadat Montazeri MSc, Daryadokht Masroor MSc, Roqayeh Aliyari MSc, Azam Hamidzadeh MSc
- The Effect of Venlafaxine and Topiramate in Reducing Migraine Headaches in Patients with Abnormal Electroencephalogram 293
 Fariborz Khorvash MD, Saleh Abbasian, Ali Mehrabi-Koushki MSc, Madjeed Ghasemi MD
- Evaluating the Effect of Foeniculum Vulgar on Scopolamin-Induced Memory Impairment in Male Mice 304
 Azadeh Mesripour PharmD, PhD, Zahra Alibabaei, Atefeh Emadi, Mohammad Reza Hojjati PhD
- Producing Integrase Minus Lentivirus for Transient Expression of the Desired Protein and Reduced Side Effects of the Virus in Gene Therapy 315
 Laleh Shariati MSc, Zahra Mohammadi, Zahra Hejazi, Mehran Modarres MSc, Mansour Salehi PhD, Mohammad Hosein Modarresi PhD, Hosein Khanahmad PhD



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و سوم، شماره (۳۲۶)، بهار دوم اردیبهشت ۱۳۹۴

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

ناشر:
انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
E-mail: publications@mui.ac.ir
دفتر مجله: دانشکده پزشکی
صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶
مسئول دفتر: گلناز رجبی
دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱
تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
وب سایت مجله: <http://www.journals.mui.ac.ir/jims>

امور نشر:
(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)
شرکت فرزانتگان راداندیش
اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵
تلفن و دورنگار: ۰۳۱-۳۶۶۸۶۳۰۲
f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
تیراژ: ۵۰۰ نسخه

ناشر:
انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
E-mail: publications@mui.ac.ir
دفتر مجله: دانشکده پزشکی
صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶
مسئول دفتر: گلناز رجبی
دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱
تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
وب سایت مجله: <http://www.journals.mui.ac.ir/jims>

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

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

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

- ۲۶۷..... بررسی اثر مکمل یاری ویتامین D بر میزان شاخص‌های لیپیدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی..... دکتر غلامرضا عسکری مهدی فروغی، زهرا مقصودی، دکتر رضا غیاثوند، دکتر بیژن ایرج، دکتر غلامرضا عسکری
- ۲۷۵..... عوامل مربوط به کیفیت زندگی مرتبط با سلامت در بیماران مبتلا به انسداد مزمن ریه..... نسرین فدایی اقدم، اکرم سادات منتظری، دریا دخت مسرور، رقیه علیاری، اعظم حمیدزاده
- ۲۸۷..... بررسی اثر بخشی ونلافاکسین و توپیرامات در کاهش سردردهای میگرنی در بیماران با **Electroencephalogram** غیر طبیعی..... دکتر فریبرز خوروش، صالحه عباسیان، علی مهربانی کوشکی، دکتر مجید قاسمی
- ۲۹۴..... بررسی تأثیر عصاره‌ی رازیانه در پیش‌گیری از اختلال حافظه‌ی ناشی از اسکوپولامین در موش سوری نر..... دکتر آزاده مصری‌پور، زهرا علی بابایی، عاطفه عمادی، دکتر محمد رضا حجتی
- ۳۰۵..... تولید لنتی ویروس اینتگراز منفی به منظور بیان گذرای پروتئین مورد نظر و کاهش اثرات جانبی ویروس در ژن درمانی..... لاله شریعتی، زهرا محمدی، زهرا حجازی، مهران مدرس، دکتر منصور صالحی، دکتر محمد حسین مدرسی، دکتر حسین خان‌احمد

بررسی اثر مکمل یاری ویتامین D بر میزان شاخص‌های لیپیدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی

مهدی فروغی^۱، زهرا مقصودی^۲، دکتر رضا غیاثوند^۳، دکتر بیژن ایرج^۴، دکتر غلامرضا عسکری^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کبد چرب غیر الکلی یک بیماری مزمن کبدی بسیار شایع می‌باشد. این بیماری، باعث سیروز کبد و در نهایت، پیوند کبد می‌شود. در بیماران مبتلا به کبد چرب، تعادل شاخص‌های لیپیدی به هم می‌خورد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر مکمل یاری ویتامین D بر شاخص‌های لیپیدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بود.

روش‌ها: در این مطالعه، که به صورت کارآزمایی بالینی تصادفی موازی انجام شد، ۶۰ بیمار مبتلا به کبد چرب غیر الکلی در گروه مداخله و دارونما قرار گرفتند. به مدت ۱۰ هفته، گروه مداخله هفته‌ای یک عدد پرل حاوی ۵۰۰۰۰ واحد بین‌الملل ویتامین D و گروه شاهد، هفته‌ای یک عدد دارونما دریافت کردند. شاخص‌های لیپیدی افراد در ابتدا و انتهای مطالعه اندازه‌گیری شد. برای تشخیص کبد چرب غیر الکلی از اولتراسوند استفاده شد. داده‌ها با استفاده از تست آنالیز کوواریانس و Regression ترتیبی آنالیز گردید.

یافته‌ها: در پایان، سطح ویتامین D سرم گروه مداخله در مقایسه با گروه دارونما به طور معنی‌داری افزایش یافته بود. همچنین، کلسترول تام و لیپوپروتئین با چگالی کم (Low-density lipoprotein یا LDL) به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه دارونما کاهش نشان داد. تأثیر مکمل‌یاری ویتامین D بر روی دیگر متغیرها در سطح معنی‌داری نبود.

نتیجه‌گیری: مکمل‌یاری ویتامین D در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی می‌تواند سطح کلسترول تام و لیپوپروتئین با چگالی کم را کاهش دهد. اما مطالعات بیشتر با تعداد نمونه‌ی بیشتر و طراحی قوی‌تر برای تأیید یافته‌ها باید در آینده انجام شود.

واژگان کلیدی: ویتامین D، پروفایل لیپیدی، کبد چرب غیر الکلی

ارجاع: فروغی مهدی، مقصودی زهرا، غیاثوند رضا، ایرج بیژن، عسکری غلامرضا. بررسی اثر مکمل یاری ویتامین D بر میزان شاخص‌های

لیپیدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۶): ۲۷۴-۲۶۷

مقدمه

کبدی شناخته شده است. شیوع این بیماری در جهان، در حدود ۲۵ درصد می‌باشد و شیوع آن در ایران، در حدود ۳۵-۳۰ برآورد شده است (۱-۲). بیماری کبد

کبد چرب غیر الکلی به تدریج در سراسر جهان افزایش پیدا کرده و به عنوان شایع‌ترین بیماری مزمن

۱- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات امنیت غذایی و گروه تغذیه‌ی جامعه، دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی دکتری، مرکز تحقیقات امنیت غذایی و گروه تغذیه‌ی جامعه، دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات امنیت غذایی و گروه تغذیه‌ی جامعه، دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشیار، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- استادیار، مرکز تحقیقات امنیت غذایی و گروه تغذیه‌ی جامعه، دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نتیجه منجر به ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی می‌گردد (۱۲). کارآزمایی‌های بالینی نشان داده است که مکمل دهی ویتامین D باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شود و برخی مطالعات اپیدمیولوژیک مشخص کرده است که افزایش سطح ویتامین D سرم باعث مطلوب شدن سطوح پروفایل لیپیدی سرم می‌گردد (۱۲).

هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر مکمل دهی ویتامین D بر روی شاخص‌های لیپیدی سرم در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بود.

روش‌ها

این مطالعه به صورت یک کارآزمایی بالینی از نوع تصادفی دو سو کور و موازی در اصفهان و با تأیید شورای تحقیقات و کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. این مطالعه بر اساس اصول بیانیه‌ی هلسینکی انجام گرفت.

شرکت کنندگان در این مطالعه، ۶۰ بیمار سرپایی مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بودند. از این افراد، رضایت‌نامه‌ی کتبی برای شرکت در مطالعه گرفته شد. شرایط ورود به مطالعه شامل موارد زیر بود؛ افراد شرکت کننده در این مطالعه نباید مبتلا به هپاتیت C، هپاتیت B و بیماری ویلسون باشند و نباید هیچ گونه سابقه‌ی ابتلا به بیماری کبدی مزمن و بیماری‌های مجاری صفراوی در گذشته داشته باشند. همچنین، عدم وجود بارداری، ابتلا به دیابت نوع ۱ و ۲ و عدم استفاده از داروهای مؤثر بر سطح Alanine Aminotransferase (ALT) شامل والپروئیک اسید، تاموکسیفن و مهارکننده‌های HMG-CoA (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA) ردوکتاز،

چرب غیر الکلی شامل طیف استئاتوزیس ساده تا استئاتوهپاتیت می‌باشد. کبد چرب غیر الکلی با چندین فاکتور شامل چاقی، دیس‌لیپیدمیا و مقاومت انسولینی در ارتباط می‌باشد. کبد چرب غیر الکلی به عنوان یک نشانه‌ی کبدی سندرم متابولیک در نظر گرفته شده است. استئاتوزیس ساده اغلب بدون نشانه است اما استئاتوهپاتیت، باعث آسیب سلول‌های کبدی شده، در نهایت به سیروز کبد می‌انجامد. فرآیندی که طی آن، استئاتوهپاتیت باعث سیروز کبدی می‌شود، هنوز ناشناخته باقی مانده است (۳-۴).

اختلالات پروفایل لیپیدی باعث افزایش التهاب می‌شود. این التهاب با بسیاری از اختلالات متعاقب چاقی، نظیر ابتلا به کبد چرب غیر الکلی و دیابت، در ارتباط است (۵-۶). در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی، سلول‌های کبدی چندین عامل پیش‌التهابی و آپولیپوپروتئین آتروژنیک تولید می‌کنند (۷)؛ در چندین مطالعه نیز ارتباط بین کاهش سطح سرمی ویتامین D و اختلالات پروفایل لیپیدی مشخص شده است. چندین مطالعه مشخص کرده است که کاهش سطح ویتامین D سرم باعث افزایش بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شود (۹-۱۰).

ویتامین D یک ویتامین محلول در چربی است که در چندین ماده‌ی غذایی نظیر لبنیات و روغن‌ها یافت می‌شود. ویتامین D از طریق سلول‌های کبدی هیدروکسیله و تبدیل به ۲۵-هیدروکسی ویتامین D می‌شود (۱۱). مشخص شده است که ویتامین D علاوه بر تنظیم متابولیسم کلسیم و فسفر، با ابتلا به چندین بیماری مزمن در ارتباط می‌باشد. همچنین، مشخص شده است که کاهش سطح سرمی ویتامین D باعث افزایش اختلالات پروفایل لیپیدی شده، در

اشعه‌ی ماورای بنفش (UV یا) (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) اندازه‌گیری شد. HDL (High-density lipoprotein) و کلسترول تام (Total cholesterol) به وسیله‌ی روش‌های آنزیماتیکی اندازه‌گیری شد. LDL (Low-density lipoprotein) سرم نیز با استفاده از معادله‌ی Friedewald محاسبه شد. همچنین، نسبت LDL به HDL در مطالعه محاسبه گردید.

برای ارزیابی میزان تجمع چربی در کبد، از اولتراسونوگرافی کبدی استفاده شد تا میزان استئاتوزیس کبدی مشخص شود. استئاتوزیس کبدی به صورت نیمه کمی از ۰ تا ۳ درجه‌بندی شد، که عدم وجود با صفر، درجه‌ی ملایم با ۱، درجه‌ی متوسط با ۲ و درجه‌ی شدید استئاتوزیس با ۳ مشخص گردید. اولتراسونوگرافی کبدی در ابتدا و پایان مطالعه انجام گرفت.

در این مطالعه، از آزمون Kolmogrov-Smirnov برای بررسی توزیع نرمال متغیرها استفاده شد. آزمون Log transformation برای متغیرهایی که به طور نرمال توزیع نشده‌اند، مورد استفاده قرار گرفت. از آزمون Independent-sample Student's t برای تشخیص تفاوت‌های مشخصات بین دو گروه و برای بررسی تغییرات بین گروهی ویتامین D سرم در پایان مطالعه استفاده شد؛ از آن جایی که میزان پایه‌ی متغیرها در ابتدای مطالعه بر روی تغییر متغیرها در پایان آن اثرگذار است، میزان پایه‌ی متغیرها در آنالیز تطابق داده شد. همچنین، به منظور تطبیق مخدوش‌گرها، از آنالیز کوواریانس (ANCOVA) و برای بررسی بهبود تجمع چربی در کبد، از آزمون Ordinal regression استفاده شد. برای بررسی

متفورمین و (Angiotensin converting enzyme) ACE از معیارهای دیگر ورود به مطالعه برشمرده شد. افراد شرکت کننده در مطالعه نباید از هیچ گونه رژیم کاهش وزنی تبعیت کنند. شرایط خروج از مطالعه نیز شامل بستری شدن در بیمارستان، عدم همکاری در مطالعه و مبتلا شدن به بیماری حاد بود.

در این مطالعه، ۳۰ نفر افراد گروه مداخله طی ۱۰ هفته، هفته‌ای یک کپسول مکمل ویتامین D به میزان ۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی دریافت کردند. ۳۰ نفر افراد گروه دارونما نیز طی ۱۰ هفته، هفته‌ای یک دارونما که از نظر شکل، رنگ، بو و مزه شبیه مکمل ویتامین D بود، دریافت کردند. برای ارزیابی دریافت مکمل ویتامین D، سطح ویتامین D سرم در ابتدا و انتهای مطالعه اندازه‌گیری شد. در طی مطالعه، هر دو هفته یک بار، از افراد یک ثبت غذای یک روزه گرفته شد. برای به دست آوردن میزان مواد غذایی افراد، از نرم‌افزار Nutritionist IV (Axxya Systems LLC, Redmond, WA) استفاده گردید و میزان فعالیت فیزیکی بر اساس پرسشنامه‌ی ثبت فعالیت فیزیکی، هر دو هفته یک بار گرفته شد. برای به دست آوردن میزان فعالیت فیزیکی افراد از معادل متابولیک (Metabolic equivalent of task) یا MET با واحد (MET-minute/week) استفاده شد.

از افراد مورد مطالعه به صورت ناشتا، در ابتدا و انتهای مطالعه، نمونه‌ی خونی گرفته شد. برای ارزیابی ویتامین D، در ابتدا و انتهای مطالعه، میزان ۲۵-هیدروکسی ویتامین D به روش Direct competitive immunoassay با استفاده از کیت تولیدی شرکت Diasercine ایتالیا انجام شد. کلسیم سرم با استفاده از روش فلورسنت با

ویتامین D باعث کاهش معنی‌داری در میزان LDL ($3/3 \pm 4/0$ - در مقایسه با $9/4 \pm 34/0$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و کلسترول تام ($3/0 \pm 4/0$ - در مقایسه با $5/5 \pm 4/0$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در مقایسه با گروه دارونما شد. اما مکمل یاری ویتامین D تأثیر معنی‌داری بر روی میزان سرمی HDL و نسبت LDL به HDL نداشت. تغییرات ویژگی‌های بالینی بیماران در طول مطالعه، بر اساس گروه ویتامین D و دارونما، در جدول ۲ نشان داده شده است.

بحث

این مطالعه اولین کارآزمایی بالینی بود که اثر مکمل یاری ویتامین D را بر روی شاخص‌های لیپیدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بررسی کرد. در این بررسی، مکمل یاری ویتامین D باعث کاهش معنی‌داری در سطح کلسترول تام و LDL شد؛ با این وجود، مکمل یاری ویتامین D اثر معنی‌داری بر روی سطح HDL و نسبت LDL به HDL نداشت. در تعدادی از مطالعات، رابطه‌ی معنی‌داری بین ابتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی و بیمارهای قلبی-عروقی دیده شده است (۱۰).

تغییرات تجمع چربی کبد نیز آزمون χ^2 مورد استفاده قرار گرفت. سطح معنی‌داری برابر $P < 0/05$ در نظر گرفته شد. آنالیز آماری در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام گرفت.

یافته‌ها

یافته‌های بالینی و دموگرافیک شرکت‌کنندگان در مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان پیروی شرکت‌کنندگان در مطالعه بسیار خوب بود و هیچ‌گونه ریزش یا عوارض جانبی از مصرف مکمل و دارونما گزارش نشد. همه‌ی شرکت‌کنندگان مطالعه را تمام کردند. با توجه به ثبت‌های غذایی و فعالیت فیزیکی گرفته شده در طی مطالعه، هیچ‌گونه تفاوتی در اجزای رژیم غذایی و فعالیت فیزیکی افراد شرکت‌کننده در دو گروه مورد مطالعه دیده نشد.

سطح ویتامین D سرم، بعد از تطبیق مخدوشگرها در گروه مداخله در مقایسه با گروه دارونما، به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($12/0 \pm 68/0$ در مقایسه با $2/4 \pm 1/9$ - نانوگرم بر میلی‌لیتر). مکمل یاری

جدول ۱. مشخصات بالینی افراد شرکت‌کننده در مطالعه بر اساس گروه‌های مورد بررسی (تعداد = ۳۰ در هر گروه)

مقدار P	گروه ویتامین D	گروه دارونما	مشخصات
۰/۲۲۰	$48/0 \pm 2/0$	$49/6 \pm 3/0$	سن (سال)
۰/۵۴۰	$87/7 \pm 1/4$	$83/6 \pm 1/4$	وزن (کیلوگرم)
۰/۰۵۷	$194/22 \pm 12/65$	$185/33 \pm 12/44$	کلسترول تام (mg/dl)
۰/۸۹۰	$40/34 \pm 12/33$	$42/12 \pm 17/60$	HDL (mg/dl)
۰/۷۶۰	$2/88 \pm 0/88$	$2/77 \pm 0/55$	نسبت LDL به HDL
۰/۰۵۴	$112/55 \pm 34/45$	$155/12 \pm 12/44$	LDL (mg/dl)
۰/۱۲۰	$9/5 \pm 3/0$	$12/9 \pm 2/0$	کلسیم (mg/dl)
۰/۳۷۰	$49/0 \pm 1/0$	$47/0 \pm 2/0$	ویتامین D سرم (ng/dl)

HDL: High-density lipoprotein; LDL: Low-density lipoprotein

مقادیر بر اساس میانگین \pm خطای استاندارد نمایش داده شده است.

جدول ۲. تغییرات ویژگی‌های بالینی بیماران در طول مطالعه بر اساس گروه‌های مورد بررسی (تعداد = ۳۰ در هر گروه)

مقدار P	گروه ویتامین D	گروه دارونما	متغیرها
۰/۰۰۱	۶۸/۰۰ ± ۱۲/۰۰	-۱/۹۰ ± ۲/۴۴	ویتامین D سرم (ng/dl)
۰/۰۳۲	۴/۰ ± ۰/۴	-۳/۲ ± ۱/۰	کلسیم (mg/dl)
۰/۰۳۳	-۴/۰ ± ۳/۰	۵/۵ ± ۴/۰	کلسترول تام (mg/dl)
۰/۲۱۰	۶/۰ ± ۳/۲	۰/۸ ± ۲/۰	HDL (mg/dl)
۰/۰۴۵	-۴/۰ ± ۳/۳	۹/۴ ± ۳/۰	LDL (mg/dl)
۰/۲۳۰	-۰/۲۰ ± ۰/۱۲	۰/۱۸ ± ۰/۰۷	نسبت LDL به HDL

HDL: High-density lipoprotein; LDL: Low-density lipoprotein

مقادیر براساس میانگین ± خطای استاندارد نمایش داده شده است.

مقدار P از آزمون ANCOVA به دست آمده و میزان دریافت رژیم غذایی، سن و جنس تطبیق داده شده است.

برده شده در مطالعات و ویژگی‌های متفاوت بیماران در این مطالعات می‌باشد (۲۲-۲۰).

در مطالعه‌ای که در بیماران همودیالیزی انجام شد، اثر معنی‌داری از مکمل یاری ویتامین بر کاهش LDL و کلسترول تام این بیماران گردید (۲۳). در مطالعه‌ی دیگری که به بررسی بیماران مبتلا به دیابت نوع دو پرداخت، مکمل یاری ویتامین D باعث افزایش میزان HDL این بیماران شد (۲۴). چندین مکانیسم، ارتباط بین سطح ویتامین D سرم و پروفایل لیپیدی را توجیه می‌کند؛ ویتامین D باعث افزایش حساسیت انسولینی، کاهش سطح هورمون پاراتورمون و متعادل کردن التهاب می‌شود که از این طریق، باعث بهبود پروفایل لیپیدی می‌گردد (۲۸-۲۵).

در این مطالعه، ما چندین محدودیت داشتیم. اولین محدودیت، استفاده از روش اولتراسوند برای تشخیص کبد چرب بود؛ در حالی که برای تشخیص دقیق کبد چرب، باید از نمونه‌برداری (بیوپسی) کبدی استفاده شود. دومین محدودیت، تعداد کم نمونه در مطالعه، به خصوص در بیماران مبتلا به کبدچرب با درجه‌ی یک و سه بود. بنابراین، مطالعات بیشتری

افزایش LDL و کاهش HDL در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی گزارش شده است (۱۲-۱۱). همچنین، در مطالعات اپیدمیولوژیک، ارتباط معنی‌داری بین افزایش سطح ویتامین D سرم و سطح مطلوب لیپوپروتئین‌ها دیده شده است (۱۲).

در مطالعه‌ای که بر روی ۸۰۱۸ فرد شرکت کننده انجام شد، رابطه‌ی معنی‌داری بین سطح سرمی LDL، HDL و نسبت LDL به HDL وجود داشت؛ اما رابطه‌ی معکوسی بین سطح ویتامین D با تری‌گلیسرید و در نتیجه، بیماری‌های قلبی-عروقی دیده شد (۱۳-۱۹). افراد دارای سطح سرمی بالای ویتامین D دارای شاخص‌های دیگری نظیر فعالیت فیزیکی مداوم و پیروی از رژیم غذایی سالم هستند که باعث مطلوب بودن شاخص‌های لیپیدی آن‌ها می‌شود و از این طریق، افزایش سطح سرمی ویتامین D سبب می‌گردد. مطالعات زیادی مکمل یاری ویتامین D را بر روی شاخص‌های لیپیدی بررسی کرده است که دارای نتایج متفاوت می‌باشد. احتمال می‌رود، دلیل متفاوت بودن این نتایج، متفاوت بودن طول مدت مطالعه، دوزهای متفاوت ویتامین D به کار

تشکر و قدردانی

این مطالعه از نتایج حاصل از پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد از دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره‌ی ۳۹۱۲۱۴ حاصل شد. از کلیه‌ی شرکت کنندگان در این مطالعه و کارکنان مرکز امنیت غذایی، تشکر و قدردانی می‌شود.

باید در این زمینه انجام شود تا اثر مکمل یاری ویتامین D را بر روی شاخص‌های لیپیدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بررسی کند. در کل، ویتامین D اثر کاهشی معنی‌داری در سطح سرمی کلسترول تام و همچنین، کلسترول LDL در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی نشان داد.

References

- Angulo P. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25(8): 883-9.
- Clark JM. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in adults. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40(Suppl 1): S5-10.
- Blackburn GL, Mun EC. Effects of weight loss surgeries on liver disease. *Semin Liver Dis* 2004; 24(4): 371-9.
- Wang JT, Liu YL. Non-alcoholic fatty liver disease: the problems we are facing. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003; 2(3): 334-7.
- Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology* 2001; 121(1): 91-100.
- Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol* 2006; 45(4): 600-6.
- Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, Wehmeier KR, Oliver D, Bacon BR. Improved nonalcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with the PPAR-gamma ligand rosiglitazone. *Hepatology* 2003; 38(4): 1008-17.
- Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26(Suppl 1): S5-20.
- Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. *Diabetes Care* 2005; 28(11): 2745-9.
- Cronk CE, Roche AF. Race- and sex-specific reference data for triceps and subscapular skinfolds and weight/stature. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1982; 35(2): 347-54.
- Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94(9): 2467-74.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357(3): 266-81.
- Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008; 117(4): 503-11.
- Parker J, Hashmi O, Dutton D, Mavrodaris A, Stranges S, Kandala NB, et al. Levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. *Maturitas* 2010; 65(3): 225-36.
- Wang L, Manson JE, Song Y, Sesso HD. Systematic review: Vitamin D and calcium supplementation in prevention of cardiovascular events. *Ann Intern Med* 2010; 152(5): 315-23.
- Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, Burckhardt P, Dawson-Hughes B, Eisman JA, et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int* 2009; 20(11): 1807-20.
- Lee JH, O'Keefe JH, Bell D, Hensrud DD, Holick MF. Vitamin D deficiency an important, common, and easily treatable cardiovascular risk factor? *J Am Coll Cardiol* 2008; 52(24): 1949-56.
- Zittermann A, Schleithoff SS, Koerfer R. Putting cardiovascular disease and vitamin D insufficiency into perspective. *Br J Nutr* 2005; 94(4): 483-92.
- Jorde R, Grimnes G. Vitamin D and metabolic health with special reference to the effect of vitamin D on serum lipids. *Prog Lipid Res* 2011; 50(4): 303-12.
- Witham MD, Dove FJ, Sugden JA, Doney AS, Struthers AD. The effect of vitamin D replacement on markers of vascular health in stroke patients - a randomised controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012; 22(10): 864-70.
- Maki KC, Rubin MR, Wong LG, McManus JF, Jensen CD, Lawless A. Effects of vitamin D supplementation on 25-hydroxyvitamin D, high-density lipoprotein cholesterol, and other cardiovascular disease risk markers in subjects

- with elevated waist circumference. *Int J Food Sci Nutr* 2011; 62(4): 318-27.
22. Sai AJ, Gallagher JC, Fang X. Effect of hormone therapy and calcitriol on serum lipid profile in postmenopausal older women: association with estrogen receptor-alpha genotypes. *Menopause* 2011; 18(10): 1101-12.
23. Yeksan M, Turk S, Polat M, Cigli A, Erdogan Y. Effects of 1,25 (OH)2D3 treatment on lipid levels in uremic hemodialysis patients. *Int J Artif Organs* 1992; 15(12): 704-7.
24. Rajpathak SN, Xue X, Wassertheil-Smoller S, Van Horn L, Robinson JG, Liu S, et al. Effect of 5 y of calcium plus vitamin D supplementation on change in circulating lipids: results from the Women's Health Initiative. *Am J Clin Nutr* 2010; 91(4): 894-9.
25. Wehmeier K, Beers A, Haas MJ, Wong NC, Steinmeyer A, Zugel U, et al. Inhibition of apolipoprotein AI gene expression by 1, 25-dihydroxyvitamin D3. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1737(1): 16-26.
26. Foroughi M, Maghsoudi Z, Ghiasvand R, Iraj B, Askari G. Effect of Vitamin D Supplementation on C-reactive Protein in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver. *Int J Prev Med* 2014; 5(8): 969-75.
27. Foroughi M, Maghsoudi Z, Khayyatzadeh S, Ghiasvand R, Askari Gh, Iraj B. Relationship between non-alcoholic fatty liver disease and inflammation in patients with non-alcoholic fatty liver. *ABR*; 2014: 717(13). [In Press].
28. Foroughi M, Maghsoudi Z, Ghiasvand R, Esmailzadeh A, Iraj B, Askari Gh, Adibi P. The effect of vitamin D supplementation on blood sugar and different indices of insulin resistance in patients with non-alcoholic fatty liver (NAFLD)". *Iran J Nurs Midwifery Res*; 2014. [In Press].

The Effect of Vitamin D Supplementation on Markers of Lipid Levels in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver

Mehdi Foroughi MSc¹, Zahra Maghsoudi MSc², Reza Ghiasvand PhD³, Bijan Iraj MD⁴,
Gholamreza Askari PhD⁵

Original Article

Abstract

Background: Nonalcoholic fatty liver is a very common chronic liver disease. Disease, gradually causes liver cirrhosis and eventually liver transplantation. In patients with fatty liver, disorders in lipid parameters exist. Purpose of this study was to investigate the effect of vitamin D supplementation on lipid parameters in patients with nonalcoholic fatty liver.

Methods: In this randomized parallel clinical trial study, 60 patients with non-alcoholic fatty liver disease participated in the intervention and placebo groups. For 10 weeks, the intervention and placebo groups received capsules of 50,000 IU vitamin D or placebo, respectively. Lipid parameters were measured at the beginning and end of the study. Nonalcoholic fatty liver was diagnosed by ultrasound. Data were analyzed using analysis of covariance (ANCOVA) and ordinal regression tests.

Findings: In intervention group, the serum vitamin D levels were significantly increased compared to the placebo group. Total cholesterol as well as low-density lipoprotein (LDL) significantly decreased in intervention group, too. The effect of vitamin D supplementation was not significant on other variables.

Conclusion: Vitamin D supplementation can reduce total cholesterol and LDL in patients with nonalcoholic fatty liver. But more researches must be conducted with large sample sizes and strong designs to confirm these findings.

Keywords: Vitamin D, Lipid profile, Non-alcoholic fatty liver

Citation: Foroughi M, Maghsoudi Z, Ghiasvand R, Iraj B, Askari Gh. **The Effect of Vitamin D Supplementation on Markers of Lipid Levels in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(326): 267-74

1- Food Security Research Center AND Department of Community Nutrition, School of Nutrition and Food Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- PhD Candidate, Food Security Research Center AND Department of Community Nutrition, School of Nutrition and Food Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Food Security Research Center AND Department of Community Nutrition, School of Nutrition and Food Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Associate Professor, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- Assistant Professor, Food Security Research Center AND Department of Community Nutrition, School of Nutrition and Food Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Gholamreza Askari PhD, Email: askari@mui.ac.ir

عوامل مربوط به کیفیت زندگی مرتبط با سلامت در بیماران مبتلا به انسداد مزمن ریه

نسرین فدایی اقدم^۱، اکرم سادات منتظری^۲، دریا دخت مسرور^۳، رقیه علیاری^۴، اعظم حمیدزاده^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیماری انسداد مزمن ریه (Chronic obstructive pulmonary disease یا COPD) طیفی از تغییرات پاتولوژیک در سیستم تنفسی است که با تنگی تنفس، سرفه و تولید خلط همراه می‌باشد. اهداف اصلی در مدیریت این بیماری شامل کاهش علائم و در نهایت، بهبود کیفیت زندگی بیمار است. مطالعه‌ی حاضر، با هدف تعیین تأثیر نشانه‌های تنفسی بر کیفیت زندگی مرتبط با سلامت در بیماران مبتلا به COPD صورت گرفت.

روش‌ها: این مطالعه‌ی توصیفی-مقطعی در سال ۱۳۹۲ بر روی ۳۳۱ بیمار مبتلا به COPD مراجعه کننده به بیمارستان‌های منتخب آموزشی شهر تهران با شیوه‌ی نمونه‌گیری در دسترس انجام شد. اطلاعات با استفاده از پرسش‌نامه‌های جمعیت‌شناختی، SGRQ (St. George's Respiratory Questionnaire) حیطه‌ی نشانه‌ها و کیفیت زندگی مرتبط با سلامت (SF-۳۶) جمع‌آوری شد. تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از آزمون‌های آماری Independent t، ضریب همبستگی Spearman، ANOVA و مدل آماری Multivariate analysis of covariance صورت گرفت.

یافته‌ها: تنگی نفس، حملات تنگی نفس و خس خس سینه در حضور متغیر سن و مدت زمان ابتلا به بیماری، با بعد سلامت جسمی ارتباط معنی‌داری داشت ($P = ۰/۰۴۹$). کاهش نمره‌ی کیفیت زندگی و افزایش شدت نشانه‌های تنفسی نیز با ابتلای طولانی مدت به بیماری، مصرف هم‌زمان دو دسته‌ی دارویی و افزایش تعداد دفعات بستری رابطه‌ی مستقیمی داشت. همچنین، بین کیفیت زندگی با جنسیت و سطح تحصیلات پایین‌تر ارتباط مستقیم مشاهده شد ($P = ۰/۰۱۱$).

نتیجه‌گیری: استفاده از رویکردهای مناسب مراقبتی ارتقای کیفیت زندگی مرتبط با سلامت، در بیماران مبتلا به بیماری مزمن انسدادی ریه توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: نشانه‌های تنفسی، کیفیت زندگی مرتبط با سلامت، بیماری انسداد مزمن ریه

ارجاع: فدایی اقدم نسرین، منتظری اکرم سادات، مسرور دریا دخت، علیاری رقیه، حمیدزاده اعظم. عوامل مربوط به کیفیت زندگی مرتبط با

سلامت در بیماران مبتلا به انسداد مزمن ریه. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۶): ۲۸۶-۲۷۵

بهداشت جهانی (World Health Organization) یا

(WHO)، بار قابل توجهی بر سیستم مراقبت سلامتی

دارد؛ به طوری که طبق برآورد انجام شده، این

بیماری سومین علت مرگ و میر تا سال ۲۰۲۰ خواهد

مقدمه

شیوع روزافزون بیماری انسدادی مزمن ریوی

(Chronic obstructive pulmonary disease یا

COPD) به عنوان یکی از اولویت‌های سازمان

۱- مری، گروه پرستاری داخلی- جراحی، دانشکده‌ی پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران

۲- مرکز تحقیقات علوم رفتاری و اجتماعی در سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران

۳- مری، گروه پرستاری داخلی- جراحی، دانشکده‌ی پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۴- مری، گروه آمار، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران

۵- مری، گروه مامایی، دانشکده‌ی پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران

بود (۱). طبق گزارش WHO، ۸۰ میلیون نفر بیمار مبتلا به COPD در جهان وجود دارند که ۱۲ میلیون نفر در آمریکا زندگی می‌کنند. همچنین، تعداد مبتلایان به این بیماری در ایران با توجه به شرایط آب و هوایی بین ۴۰-۱۰ درصد در نوسان می‌باشد (۲).

COPD مشکلات اقتصادی و اجتماعی زیادی را به جوامع تحمیل می‌کند که از جمله آن‌ها می‌توان به هزینه‌های مستقیم، هزینه‌های ناشی از مراقبت‌های درمانی و دارویی و هزینه‌های غیر مستقیم شامل هزینه‌های غیبت از کار، اشغال تخت‌های بیمارستانی، هزینه‌های کارکنان درمانی و... اشاره نمود (۳). بیشترین تأثیرات بیماری، ناشی از تشدید علائم از جمله تنگی نفس می‌باشد. این بیماری باعث ایجاد طیفی از تغییرات پاتولوژیک در سیستم تنفسی می‌گردد (۴) که با کاهش تدریجی در جریان هوای بازدم، افزایش تنگی نفس، سرفه و تولید خلط همراه است (۵). تجربه تنگی نفس سبب کاهش عملکرد بیماران می‌شود و از طرف دیگر، ترس از تجربه‌ی مجدد این نشانه می‌تواند منجر به اجتناب از فعالیت بیماران گردد (۶). اهداف اصلی در مدیریت این بیماری شامل کاهش علائم، جلوگیری از تشدید بیماری، حفظ توانایی‌های جسمی و روحی و در نهایت بهبود کیفیت زندگی مرتبط با سلامت بیمار می‌باشد (۱). بنابراین زمانی که تاریخچه بیماری اخذ می‌گردد، لازم است اثرات تنگی نفس و سایر علائم بر کار، فعالیت روزانه و عملکرد اجتماعی بیمار مورد بررسی قرار گیرد (۷).

از دیدگاه WHO، کیفیت زندگی مفهومی گسترده و ترکیبی از درک افراد از وضعیت فیزیکی، روانی، سطح استقلال، ارتباط اجتماعی و تعامل با محیط،

اعتقادات و ارزش‌های شخصی است. کیفیت زندگی مرتبط با سلامت زیرمجموعه‌ای از کیفیت زندگی کلی می‌باشد که شامل احساس رفاه ذهنی، عاطفی، اجتماعی و فیزیکی بوده، منعکس‌کننده‌ی ارزیابی ذهنی بیماران و نحوه‌ی پاسخ آن‌ها به بیماری است (۸). افراد مبتلا به بیماری‌های مزمن با توجه به نوع بیماری و ناتوانی خود، برداشت‌های متفاوتی از کیفیت زندگی دارند. بیماران مبتلا به COPD، کاهش تدریجی سلامت را در طی سال‌های زندگی با تخریب عملکرد ریوی و تشدید نشانه‌های تنفسی تجربه می‌کنند و زندگی اجتماعی، عملکرد فیزیکی و فعالیت روزانه‌ی زندگی آن‌ها از جمله برقراری ارتباط با اعضای خانواده، کارکنان بهداشتی و سایرین، مشارکت در اجتماع، انجام ورزش‌ها و فعالیت‌های مورد علاقه به طور مکرر مختل می‌شود (۹).

افزایش خطر مرگ و میر، افت سریع‌تر عملکرد ریه و کاهش کیفیت زندگی در هنگام دوره‌های تشدید بیماری بروز می‌کند (۱۰). مطالعات مختلف نشان داده‌اند، این بیماران کیفیت زندگی پایینی دارند، اما این مطالعات تأثیر نشانه‌های تنفسی بر کیفیت زندگی را مورد بررسی قرار نداده و مشخص نکرده‌اند که کدام یک از نشانه‌های تنفسی، کیفیت زندگی مرتبط با سلامت این بیماران را بیشتر تحت تأثیر قرار می‌دهد. نشانه‌های شدید، خسته‌کننده و طولانی مدت، افزایش پذیرش و بستری بودن در بیمارستان و هزینه‌های مستقیم و غیر مستقیم ناشی از بیماری، بر کیفیت زندگی بیماران تأثیر می‌گذارد (۱۱-۱۴).

با توجه به این‌که بیشتر مراقبت‌های فعلی بر اساس دستور پزشک و در رابطه با علائم و نشانه‌های

مشکلات ریوی می‌باشد. در این پرسش‌نامه در صورت نداشتن نشانه‌ی مربوط، امتیاز کاهش و با افزایش شدت و تکرار آن نشانه، امتیاز افزایش می‌یابد؛ به طوری که امتیاز صفر نشان دهنده‌ی نبود نشانه‌های تنفسی و امتیاز ۱۰۰ نشان دهنده‌ی بیشترین شدت نشانه‌های تنفسی است. روایی و پایایی پرسش‌نامه‌ی SGRQ در مطالعات داخلی (۱۵) و خارجی (۱۶) سنجیده شده است. از جمله توسط فلاح تفتی و همکاران مورد بررسی قرار گرفت و پایایی آن از طریق ضریب Cronbach's alpha برای نمرات حیطه‌ی نشانه‌ها، ۰/۷۸ به دست آمد (۱۵). روایی پرسش‌نامه در مطالعه‌ی حاضر نیز توسط ۱۰ نفر از پزشکان متخصص و اعضای هیأت علمی تأیید گردید. پایایی آن نیز از طریق ارزیابی همبستگی درونی سؤالات بررسی شد و ضریب Cronbach's alpha بخش نشانه‌ها برابر با ۰/۷۶ به دست آمد.

کیفیت زندگی مرتبط با سلامت این بیماران نیز با استفاده از پرسش‌نامه‌ی کیفیت زندگی - فرم کوتاه (Quality of life-Short form یا QOL-SF36) مورد بررسی قرار گرفت. این پرسش‌نامه به دو بعد سلامت جسمی و روانی تقسیم شده است. سلامت جسمی شامل زیرمقیاس‌های سلامت عمومی، محدودیت ایفای نقش به دلایل جسمانی، درد بدنی و عملکرد جسمانی و سلامت روانی نیز شامل زیرمقیاس‌های محدودیت ایفای نقش به دلایل عاطفی، عملکرد اجتماعی، نشاط و سلامت روانی می‌باشد. پایین‌ترین و بالاترین نمره در این پرسش‌نامه، صفر و ۱۰۰ است که به ترتیب بدترین و بهترین حالت را در مقیاس مورد نظر نشان می‌دهد.

کلی بیماری صورت می‌گیرد، نتایج چنین پژوهشی با مشخص کردن ارتباط هر یک از علائم تنفسی با کیفیت زندگی مرتبط با سلامت، سبب افزایش آگاهی بیماران و خانواده‌ی آنان و همچنین تیم درمانی و در نهایت منجر به ارتباط نزدیک‌تر بین بیمار و مراقبت دهندگان خواهد شد.

روش‌ها

مطالعه‌ی توصیفی - مقطعی حاضر در سال ۱۳۹۲ بر روی ۳۳۱ بیمار مبتلا به COPD بستری در بیمارستان‌های آموزشی منتخب شهر تهران انجام گردید. نمونه‌گیری به صورت در دسترس بود. معیارهای ورود به مطالعه شامل عدم ابتلای هم‌زمان به دیگر بیماری‌های عفونی ریه (با توجه به تشخیصی ثبت شده در پرونده‌ی بیمار) و ثبات وضعیت جسمی (منظور نداشتن تنگی نفس) و روانی (عدم وجود سابقه‌ی اختلالات روانی و بستری شدن در بیمارستان به علت افسردگی، اضطراب و استرس) در حین تکمیل پرسش‌نامه بود. از پرسش‌نامه‌ی متغیرهای جمعیت‌شناختی که شامل متغیرهای جنس، سن، وضعیت تأهل، سطح تحصیلات، نوع بیماری، مدت زمان ابتلا به بیماری، مصرف سیگار، نوع داروی مصرفی، دفعات بستری در طول یک سال گذشته و ابتلا به بیماری‌های دیگر بود، استفاده گردید.

جهت بررسی نشانه‌های تنفسی، بخش نشانه‌های پرسش‌نامه‌ی SGRQ (St. George's Respiratory Questionnaire) (شامل سه حیطه‌ی نشانه‌ها، فعالیت و اثرات بیماری) مورد استفاده قرار گرفت. این بخش شامل ۸ گویه و در برگیرنده‌ی سؤالاتی در رابطه با سرفه، تولید خلط، کوتاهی تنفس، خس خس سینه و

می‌دادند. بیشتر بیماران به هر دو بیماری آمفیزم (Emphysema) و برونشیت مزمن (۷۶/۷ درصد) مبتلا بودند و ۲۰۹ نفر (۶۳/۱ درصد) از آنان سابقه‌ی مصرف سیگار داشتند. سابقه‌ی ابتلا به بیماری ۳۶/۳ درصد بیماران به مدت ۱ تا ۵ سال بود و ۵۸/۳ درصد آنان از برونکودیلاتورها، ۱/۹ درصد از کورتیکواستروئیدها و ۳۹/۸ درصد از هر دو دارو استفاده می‌کردند. ۳۶/۳ درصد بیماران سابقه‌ی بستری حداقل یک بار در طول یک سال گذشته را داشتند و ۵۱/۷ درصد بیماران از ابتلا به بیماری‌های دیگر نیز رنج می‌برند.

بر اساس یافته‌های حاصل شده، میانگین امتیاز نشانه‌های تنفسی $17/9 \pm 62/9$ بود (در مردان $18/03 \pm 62/56$ و در زنان $17/6 \pm 64/15$). بیشتر بیماران نشانه‌های تنفسی شامل تنگی نفس، خس خس سینه، سرفه و خلط را در اغلب روزهای هفته تجربه کرده بودند که بالاترین شیوع را تنگی نفس (تقریباً هر روز هفته) با فراوانی ۸۴/۴ درصد به خود اختصاص داد. میانگین و انحراف معیار نمره‌ی کیفیت زندگی مرتبط با سلامت در بعد کلی، جسمی و روانی به ترتیب $18/4 \pm 40/9$ ، $18/5 \pm 34/4$ و $23/5 \pm 47/9$ به دست آمد که امتیاز در بعد سلامت جسمی کمتر بود. همچنین، ۵۱/۷ درصد نمره‌ی کیفیت زندگی کمتر از ۴۰ (نامطلوب)، ۳۱/۳ درصد نمره‌ی کیفیت زندگی بین ۴۰-۶۰ (طبیعی) و ۱۷/۲ درصد نمره‌ی کیفیت زندگی بالای ۶۰ (مطلوب) را گزارش کردند. ارتباط کیفیت زندگی و نشانه‌های تنفسی با متغیرهای جمعیت‌شناختی در جدول ۱ ارائه شده است.

لازم به ذکر است که بر اساس آزمون‌های تک

لازم به ذکر است که روایی پرسش‌نامه توسط منتظری و همکاران با استفاده از روش «مقایسه‌ی گروه‌های شناخته شده» و «روایی همگرایی» مورد ارزیابی و تأیید قرار گرفت. پایایی پرسش‌نامه نیز محاسبه و حداقل ضرایب استاندارد پایایی در محدوده‌ی ۰/۷۷-۰/۹۰ برآورد شد (۱۷). رضایت‌نامه‌ی کتبی از نمونه‌های مورد مطالعه با اطمینان از این‌که اطلاعات شخصی و پاسخ‌های آن‌ها محرمانه خواهد ماند، اخذ گردید. اطلاعات در بیمارستان و از طریق پرسش‌نامه به صورت خودگزارش‌دهی جمع‌آوری شد. لازم به ذکر است در صورتی که بیمار فاقد سواد خواندن و نوشتن بود، پژوهشگران پرسش‌نامه را قرائت می‌نمودند. جهت بررسی ارتباط نشانه‌های تنفسی و کیفیت زندگی با متغیرهای دموگرافیک از آزمون‌های آماری Independent t، ضریب همبستگی Spearman و ANOVA و جهت بررسی تأثیر نشانه‌های تنفسی بر کیفیت زندگی از مدل آماری Multivariate analysis of covariance استفاده شد. در نهایت، داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۸ (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در مطالعه‌ی حاضر، ۳۳۱ بیمار مبتلا به COPD بررسی شدند که ۲۴۱ نفر مرد (۷۲/۸ درصد) و ۹۰ نفر زن (۲۷/۲ درصد) بودند. محدوده‌ی سنی بیماران ۲۴-۹۲ سال با میانگین $66/7 \pm 12/2$ سال بود. اغلب شرکت‌کنندگان را افراد متأهل (۸۳/۱ درصد) و بی‌سواد (۴۸/۶ درصد) تشکیل

متغیره، بین کیفیت زندگی و متغیرهای دموگرافیک (سن، نوع بیماری، وضعیت تأهل، مصرف سیگار و بیماری‌های دیگر) رابطه‌ی معنی‌داری یافت نشد ($P > 0/050$). همچنین، بین نشانه‌های تنفسی و متغیرهای دموگرافیک سن، جنس، وضعیت تأهل، سطح تحصیلات، نوع بیماری، مصرف سیگار و وجود بیماری‌های دیگر نیز رابطه معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/050$). ضریب همبستگی بین نشانه‌های تنفسی، کیفیت زندگی و ابعاد آن در

جدول ۲ گزارش شده است.

بین نشانه‌های تنفسی سرفه و خلط و کیفیت زندگی ارتباط معنی‌داری یافت نشد ($P > 0/050$). همچنین، نتایج تأثیر هر یک از نشانه‌های تنفسی بر ابعاد کیفیت زندگی در حضور متغیرهای جمعیت‌شناختی سن و مدت زمان بستری در جدول ۳ آمده است. لازم به ذکر است متغیرهایی که ارتباط معنی‌داری با کیفیت زندگی نداشتند ($P > 0/050$)، در جدول گزارش نشد.

جدول ۱. ارتباط کیفیت زندگی و نشانه‌های تنفسی با متغیرهای جمعیت‌شناختی

مقدار P	میانگین \pm انحراف معیار	متغیر
††, 0/001	۵۶/۷۷ \pm ۱۸/۰۲	یک بار
	۶۳/۹۸ \pm ۱۶/۷۱	دو بار
	۶۶/۲۴ \pm ۱۷/۸۴	سه بار
	۱۷/۶۵ \pm ۱۴/۶۵	بیشتر از سه بار
††, 0/009	۶۰/۸۹ \pm ۱۷/۹۲	برونکودیلاتور
	۶۶/۸۳ \pm ۲۳/۳۱	کورتیکواستروئید
	۶۷/۱۶ \pm ۱۷/۱۰	هر دو
†††, 0/009	$r = 0/14$	مدت زمان ابتلا به بیماری
#, 0/001	۴۱/۰۱ \pm ۱۸/۶۵	مرد
	۳۵/۵ \pm ۱۶/۹۹	زن
††, 0/011	۳۷/۶۱ \pm ۱۷/۳۱	بی‌سواد
	۴۳/۵۷ \pm ۱۹/۲۶	ابتدایی
	۴۶/۱۸ \pm ۱۸/۲۸	دیپلم
	۴۲/۷۸ \pm ۲۰/۵۴	دانشگاه
††, 0/010	۴۴/۷۸ \pm ۱۹/۴۲	یک بار
	۴۱/۸۰ \pm ۱۷/۰۵	دو بار
	۳۹/۶۳ \pm ۱۷/۱۳	سه بار
	۳۱/۴۹ \pm ۱۴/۳۳	بیش از سه بار
††, 0/010	۴۴/۳۴ \pm ۱۹/۷۳	برونکودیلاتور
	۳۸/۲۲ \pm ۱۰/۵۸	کورتیکواستروئید
	۳۵/۶۶ \pm ۱۴/۳۴	هر دو
†††, 0/010	$r = -0/199$	مدت زمان ابتلا به بیماری

*ارتباط ناشی از تفاوت بین دفعات بستری یک بار با سایر گروه‌ها؛ **ارتباط ناشی از تفاوت بین مصرف‌کننده‌ی برونکودیلاتور و هر دو دارو؛ ***ارتباط ناشی از تفاوت بین گروه بی‌سواد با دو گروه ابتدایی و دیپلم؛ †ارتباط ناشی از تفاوت بین دفعات بستری بیش از سه بار با دفعات یک و دو بار؛ ††آزمون آنالیز واریانس یک طرفه؛ †††ضریب همبستگی Spearman؛ ††††آزمون Independent t

جدول ۲. ارتباط بین نشانه‌های تنفسی، کیفیت زندگی و ابعاد آن

کیفیت زندگی و ابعاد آن	نشانه‌های تنفسی	P	r
بعد سلامت جسمی	کل نشانه‌ها	< ۰/۰۰۱	-۰/۳۲۹
	تنگی نفس	< ۰/۰۰۱	-۰/۲۴۵
	حملات شدید تنگی نفس	< ۰/۰۰۱	-۰/۲۵۴
	خس خس سینه	< ۰/۰۰۱	-۰/۱۹۳
	مدت زمان حملات تنگی نفس	< ۰/۰۰۱	-۰/۲۴۶
	احساس نشاط و سلامت	< ۰/۰۰۱	-۰/۳۱۸
بعد سلامت روانی	کل نشانه‌ها	< ۰/۰۰۱	-۰/۳۵۳
	تنگی نفس	< ۰/۰۰۱	-۰/۲۰۴
	حملات شدید تنگی نفس	< ۰/۰۰۱	-۰/۱۹۹
	خس خس سینه	۰/۰۰۲	-۰/۱۷۱
	مدت زمان حملات تنگی نفس	< ۰/۰۰۱	-۰/۲۰۵
	احساس نشاط و سلامت	< ۰/۰۰۱	-۰/۴۷۴
کیفیت زندگی کل	کل نشانه‌ها	< ۰/۰۰۱	-۰/۳۷۰
	تنگی نفس	< ۰/۰۰۱	-۰/۲۴۳
	حملات شدید تنگی نفس	< ۰/۰۰۱	-۰/۲۷۳
	خس خس سینه	< ۰/۰۰۱	-۰/۱۹۳
	مدت زمان حملات تنگی نفس	< ۰/۰۰۱	-۰/۲۳۴
	احساس نشاط و سلامت	< ۰/۰۰۱	-۰/۴۶۰

*ضریب همبستگی Spearman

به ماهیت بیماری، تنگی نفس بیشتری را نسبت به سایر اختلالات مزمن تجربه می‌کنند (۲۰). بر اساس یافته‌ها، ۵۱/۷ درصد شرکت کنندگان مطالعه‌ی حاضر وضعیت کیفیت زندگی نامطلوبی داشتند (نقطه‌ی برش کمتر از ۴۰) که نشان دهنده‌ی اختلال در کیفیت زندگی بیماران باشد. از سوی دیگر، این اختلال در بعد سلامت جسمی نسبت به بعد سلامت روانی بیشتر بود. سایر تحقیقات نیز نشان داده‌اند که کیفیت زندگی بیماران در تمامی ابعاد به ویژه بعد سلامت جسمی مطلوب نیست (۲۱-۲۲، ۱۱-۱۲) که این نتایج با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌راستا می‌باشد.

بحث

میانگین امتیاز نشانه‌های تنفسی در بیماران ۶۲/۹ بود که بیانگر بالا بودن شدت نشانه‌های تنفسی در این بیماران می‌باشد. بیشترین نشانه‌های تجربه شده به ترتیب به تنگی نفس، خس خس سینه، سرفه و خلط تعلق داشت. این میزان در مطالعه‌ی Talley و Wicks، ۵۴/۶ گزارش گردید (۱۸). شایع‌ترین نشانه‌های تنفسی در تحقیق Espinosa و همکاران به ترتیب سرفه‌ی خلط‌دار، تنگی نفس، سرفه و خس خس سینه بود (۱۹). Walke و همکاران در مطالعه‌ی خود بیان کردند که بیماران مبتلا به COPD با توجه

جدول ۳. تأثیر نشانه‌های تنفسی بر ابعاد کیفیت زندگی در حضور متغیر سن و مدت بیماری

نشانه‌ها	گزینه‌های سؤالات	میانگین \pm خطای استاندارد	مقدار P
	اصلاً	۵۲/۵۶ \pm ۵/۶۲	< 0.001 *
	فقط هنگام عفونت	۴۵/۹۳ \pm ۵/۴۹	
	چندین روز در ماه	۲۹/۷۲ \pm ۷/۴۵	
	چندین روز در هفته	۳۵/۶۶ \pm ۴/۳۸	
بروز تنگی نفس در سه ماه گذشته	تقریباً هر روز	۲۹/۱۱ \pm ۲/۷۲	0.026 **
	اصلاً	۴۴/۷۷۵ \pm ۳/۶۹	
	فقط هنگام عفونت	۳۴/۹۷ \pm ۴/۵۵	
	چندین روز در ماه	۲۷/۴۰ \pm ۷/۶۲	
بروز خس خس سینه در سه ماه گذشته	چندین روز در هفته	۴۶/۰۴ \pm ۴/۰۴	0.049 ***
	تقریباً هر روز	۳۹/۸۳ \pm ۳/۴۸	
	بدون حمله	۴۱/۴۶ \pm ۲/۹۴	
	یک بار	۳۹/۶۴ \pm ۳/۰	
بروز حملات تنگی نفس در سه ماه گذشته	دو بار	۳۸/۴۹ \pm ۳/۸۹	0.030 †
	سه بار	۳۹/۲۱ \pm ۴/۹۰	
	بیش از سه بار	۳۳/۷۲ \pm ۳/۴۱	
	تمامی روزها	۴۶/۱۲ \pm ۳/۷۵	
احساس نشاط و سلامت در سه ماه گذشته	تقریباً هر روز	۴۱/۸۳ \pm ۳/۰۸	0.003 ††
	۳-۴ روز	۳۷/۶۳ \pm ۳/۳۹	
	۱-۲ روز	۳۶/۰۰ \pm ۳/۷۵	
	تقریباً هیچ روز	۳۱/۴۲ \pm ۳/۸۳	
بعد سلامت روان	تمامی روزها	۶۸/۵۸ \pm ۴/۷۱	< 0.001 #
	تقریباً هر روز	۵۷/۵۱ \pm ۳/۸۸	
	۳-۴ روز	۴۱/۸۷ \pm ۴/۲۶	
	۱-۲ روز	۴۱/۶۲ \pm ۴/۷۱	
احساس نشاط و سلامت در سه ماه گذشته	تقریباً هیچ روز	۳۲/۷۶ \pm ۴/۸۱	< 0.001 ##

*ارتباط بین گزینه‌های اصلاً و تقریباً هر روز؛ **ارتباط بین گزینه‌های هنگام عفونت و تقریباً هر روز؛ ***ارتباط بین گزینه‌های اصلاً و چندین روز در ماه؛ †ارتباط بین گزینه‌های بدون حمله و بیش از سه بار؛ ††ارتباط بین گزینه‌های تمامی روزها و تقریباً هیچ روز؛ †††ارتباط بین گزینه‌های تقریباً هر روز و تقریباً هیچ روز؛ #ارتباط بین گزینه‌های تمام روزها با سایر گروه‌ها به جز تقریباً هر روز؛ ##ارتباط بین گزینه‌های تقریباً هر روز با ۳-۴ روز و تقریباً هیچ روز

در مطالعه‌ی حاضر کاهش نمره‌ی کیفیت زندگی با جنس زن، تحصیلات پایین‌تر، ابتلای طولانی مدت به بیماری، مصرف هم‌زمان دو دسته‌ی دارویی برونکودیلاتور و کورتیکواستروئید و افزایش تعداد دفعات بستری رابطه‌ی مستقیمی داشت؛ در حالی که شرایطی همچون ابتلای طولانی مدت به بیماری،

مصرف هم‌زمان دو دسته‌ی دارویی و افزایش تعداد دفعات بستری با تشدید نشانه‌های تنفسی همراه بود و در نتیجه این یافته دور از انتظار نیست؛ چرا که به دلیل ماهیت پیش‌رونده‌ی بیماری در طولانی مدت و تشدید نشانه‌های تنفسی، نیاز به مداخلات درمانی چند دارویی و بستری در مراکز درمانی افزایش

می‌باید که این نتایج با مطالعه‌ی Esteban و همکاران (۲۳) همسو بود. از طرف دیگر، عدم وجود درمان قطعی، بستری شدن مکرر و استفاده از درمان چند دارویی، ممکن است این تصور را در بیماران ایجاد کند که وضعیت سلامتی درک شده‌ی مطلوبی ندارند و در نتیجه کیفیت زندگی پایینی را بیان نمایند.

همچنین، این فرضیه وجود دارد که افراد دارای تحصیلات بالاتر، درک بیشتری از فرایند بیماری و درمان آن داشته، به طور مطلوبی از امکانات موجود جهت تطبیق با بیماری خود استفاده می‌کنند. از آنجایی که ما در یک جامعه‌ی در حال توسعه زندگی می‌کنیم، سطح تحصیلات پایین‌تر با سطح اقتصادی-اجتماعی پایین‌تر و در نتیجه عدم بهره‌گیری از زندگی باکیفیت همراه است (۲۴). در بیماران مبتلا به آسم و COPD نیز افراد دارای تحصیلات بالاتر، از کیفیت زندگی مطلوب‌تری برخوردار بودند (۲۵-۲۶). در رابطه با جنسیت، مطالعات همسو (۲۷-۲۸) با مطالعه‌ی حاضر، کیفیت زندگی پایین‌تری را در زنان نسبت به مردان گزارش نمودند که ممکن است به دلایلی همچون ابتلا به مراحل پیشرفته‌ی بیماری و بیماری‌های دیگر، اضطراب و افسردگی، حساسیت بیشتر زنان در رویارویی با رویدادهای ناگوار و سایر عوامل اجتماعی-فرهنگی مرتبط با جنسیت باشد (۲۹-۳۰، ۲۴).

در مطالعه‌ی حاضر ارتباط معنی‌داری بین نشانه‌های تنفسی و کیفیت زندگی مرتبط با سلامت بیماران یافت شد؛ بدین معنی که افزایش امتیاز نشانه‌های تنفسی با افت بیشتر کیفیت زندگی و ابعاد آن همراه است. در این زمینه، مطالعات دیگر نیز بیانگر ارتباط علایم تنفسی و کاهش نمره‌ی تمامی

ابعاد کیفیت زندگی می‌باشد (۳۱-۳۳، ۲۹، ۲۲). بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، تنگی نفس، تعداد و مدت زمان حملات آن، خس خس سینه و احساس نشاط و سلامت با ابعاد سلامت جسمی و روانی کیفیت زندگی ارتباط معنی‌داری را نشان داد، اما این نتایج در حضور متغیر سن و مدت زمان ابتلا به بیماری تغییر یافت. با این تفاوت که تنها ارتباط تنگی نفس، حملات تنگی نفس، خس خس سینه و احساس نشاط و سلامت با بعد سلامت جسمی باقی‌مانده و تنها احساس نشاط و سلامت با بعد روان ارتباط معنی‌داری داشت.

پیگیری یک ساله‌ی بیماران مبتلا به COPD توسط Monteagudo و همکاران، بیانگر کاهش کیفیت زندگی آنان در حضور نشانه‌های تنگی نفس، خلط و سرفه بود (۳۴). در مطالعه‌ی Wijnhoven و همکاران نیز تنگی نفس، خلط و سرفه‌ی مزمن و سن بیماران با کاهش نمره‌ی کیفیت زندگی همراه شد، اما با خس خس سینه ارتباطی نداشت (۲۵). نتایج پژوهش Voll-Aanerud و همکاران حاکی از آن بود که تنگی نفس با حیطه‌ی جسمی و حملات آن با حیطه‌ی روانی ارتباط دارد (۲۲). این در حالی است که با نتایج مطالعه‌ی حاضر در حیطه‌ی روان (بعد از در نظر گرفتن متغیر سن و مدت زمان ابتلا به بیماری) همسو نبود.

مطالعه‌ی Voll-Aanerud و همکاران نشان داد که تنگی نفس در حالت استراحت با بالاترین و سرفه‌ی شبانه با پایین‌ترین تأثیر بر نمره‌ی کیفیت زندگی در بعد سلامت جسمی و روان همراه بود. همچنین مشخص شد (در حضور متغیر سن و مدت زمان ابتلا به بیماری)، نشانه‌های تنفسی با بعد سلامت جسمی

را فراهم می‌نماید (۲۲).

نتیجه‌گیری

کیفیت زندگی ابعاد گوناگونی دارد و تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرد. به طور قطع مواجهه با بیماری و نشانه‌های مرتبط با آن، یکی از عوامل مؤثر بر کیفیت زندگی می‌باشد. با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر و دیگر مطالعات، اهمیت نشانه‌های تنفسی به عنوان عامل خطر بالقوه‌ی افت کیفیت زندگی بیماران مبتلا به COPD قابل توجه است. به همین منظور، باید استراتژی‌های مدیریت نشانه‌های بیماری به سمت نشانه‌هایی سوق داده شود که بیشترین ارتباط را با کیفیت زندگی دارند تا با مداخلات درمانی به موقع و مؤثر جهت تسکین نشانه‌ها، به ارتقای کیفیت زندگی این بیماران کمک شود. به نظر می‌رسد زنان، افراد دارای تحصیلات پایین‌تر، ابتلای طولانی مدت به بیماری، مصرف هم‌زمان دو دسته‌ی دارویی و تعداد دفعات بستری بیشتر، نیازمند توجه بیشتری در این زمینه می‌باشند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی کسانی که در انجام این پژوهش همکاری نمودند سپاسگزاری می‌گردد.

ارتباط بیشتری دارد (۳۳) که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی داشت. علامت بارز بیماری برونشیت، سرفه‌ی مزمن و خلط است که در تحقیق حاضر هیچ کدام از این علائم ارتباط معنی‌داری با کیفیت زندگی و ابعاد آن نداشت. از این نتایج می‌توان استنباط کرد که بیماران مبتلا به برونشیت مزمن نسبت به آمفیژم، از کیفیت زندگی بالاتری برخوردارند که در نتایج نیز میانگین کیفیت زندگی آن‌ها بالاتر بود، اما تفاوت معنی‌داری بین این دو مشاهده نشد.

محدودیت مطالعه‌ی حاضر، مقطعی بودن آن می‌باشد. بنابراین با صراحت کامل نمی‌توان گفت که وجود نشانه‌های تنفسی باعث کاهش کیفیت زندگی می‌شود یا کیفیت زندگی پایین منجر به درک بیشتر بیماران از نشانه‌های تنفسی می‌گردد. از طرف دیگر، شدت بیماری مورد بررسی قرار نگرفت و ممکن است در مقایسه با نشانه‌های تنفسی ارتباط بیشتری با کیفیت زندگی داشته باشد، اما برخی مطالعات نشان می‌دهند که نشانه‌های تنفسی در بیماران مبتلا به آسم، COPD و سارکوئیدوزیس، با کیفیت پایین زندگی آن‌ها ارتباط داشته است؛ در حالی که این ارتباط در رابطه با شدت بیماری صدق نمی‌کند (۳۲). بنابراین بررسی وجود علائم تنفسی، آسان و کم‌هزینه است و نسبت به شدت بیماری توصیف بهتری از رفاه بیمار

References

- Ryynanen OP, Soini EJ, Lindqvist A, Kilpelainen M, Laitinen T. Bayesian predictors of very poor health related quality of life and mortality in patients with COPD. *BMC Med Inform Decis Mak* 2013; 13: 34.
- Shariati A, Eidani E, Goharpei Sh, Latifi M, Bakhshandeh Bavarsad M. Surveying the effect of inspiratory muscle training on quality of life in COPD patients. *Jundishapur Sci Med J* 2012; 11(4): 59-68. [In Persian].
- Halvani AH, Tavakoli M, Safari Kamalabadi M. Epidemiology of COPD in inpatients. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci* 2009; 17(2): 3-9. [In Persian].
- Decramer M, De BF, Del PA, Marinari S. Systemic effects of COPD. *Respir Med* 2005; 99(Suppl B): S3-10.
- Leidy NK, Rennard SI, Schmier J, Jones MK,

- Goldman M. The breathlessness, cough, and sputum scale: the development of empirically based guidelines for interpretation. *Chest* 2003; 124(6): 2182-91.
6. Bailey CD, Wagland R, Dabbour R, Caress A, Smith J, Molassiotis A. An integrative review of systematic reviews related to the management of breathlessness in respiratory illnesses. *BMC Pulm Med* 2010; 10: 63.
 7. Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist SA, Calverley P, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176(6): 532-55.
 8. Masroor DD, Raffi F, Fadaeeaghdam N, Hoseini AF. Health-related quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Iran J Nurs* 2012; 25(76): 19-27. [In Persian].
 9. Mir Bagheri N, Memarian R, Mohammadi A. Effects of regular walking programme on quality of life of elderly patients with moderate COPD. *Iran J Nurs Res* 2008; 2(7): 19-27. [In Persian].
 10. Albert RK, Connett J, Bailey WC, Casaburi R, Cooper JA, Jr., Criner GJ, et al. Azithromycin for prevention of exacerbations of COPD. *N Engl J Med* 2011; 365(8): 689-98.
 11. Martin A, Rodriguez-Gonzalez Moro JM, Izquierdo JL, Gobartt E, de LP. Health-related quality of life in outpatients with COPD in daily practice: the VICE Spanish Study. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2008; 3(4): 683-92.
 12. Spencer S, Calverley PM, Sherwood BP, Jones PW. Health status deterioration in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163(1): 122-8.
 13. Kheirabadi GhR, Ekochakian Sh, Amanat S, Nemati M. Comparison of the quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease and control group. *Hormozgan Med J* 2009; 12(4): 255-60. [In Persian].
 14. Brown DW, Pleasants R, Ohar JA, Kraft M, Donohue JF, Mannino DM, et al. Health-related quality of life and chronic obstructive pulmonary disease in North Carolina. *N Am J Med Sci* 2010; 2(2): 60-5.
 15. Fallah Tafti S, Marashian SM, Cheraghvandi A, Emami H. Investigation of validity and reliability of Persian version of the "St. George Respiratory Questionnaire. *Pejouhandeh* 2007; 12(1): 43-50. [In Persian].
 16. Al-shair K, Atherton GT, Kennedy D, Powell G, Denning DW, Caress A. Validity and reliability of the St. George's Respiratory Questionnaire in assessing health status in patients with chronic pulmonary aspergillosis. *Chest* 2013; 144(2): 623-31.
 17. Montazeri A, Goshtasebi A, Vahdaninia M, Gandek B. The Short Form Health Survey (SF-36): translation and validation study of the Iranian version. *Qual Life Res* 2005; 14(3): 875-82.
 18. Talley CH, Wicks MN. A pilot study of the self-reported quality of life for patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Heart Lung* 2009; 38(2): 141-50.
 19. Espinosa de los Monteros MJ, Pena C, Soto Hurtado EJ, Jareno J, Miravittles M. Variability of respiratory symptoms in severe COPD. *Arch Bronconeumol* 2012; 48(1): 3-7.
 20. Walke LM, Gallo WT, Tinetti ME, Fried TR. The burden of symptoms among community-dwelling older persons with advanced chronic disease. *Arch Intern Med* 2004; 164(21): 2321-4.
 21. Wang HM, Beyer M, Gensichen J, Gerlach FM. Health-related quality of life among general practice patients with differing chronic diseases in Germany: cross sectional survey. *BMC Public Health* 2008; 8: 246.
 22. Voll-Aanerud M, Eagan TM, Wentzel-Larsen T, Gulsvik A, Bakke PS. Respiratory symptoms, COPD severity, and health related quality of life in a general population sample. *Respir Med* 2008; 102(3): 399-406.
 23. Esteban C, Moraza J, Quintana JM, Aburto M, Capelastegui A. Use of medication and quality of life among patients with COPD. *Respir Med* 2006; 100(3): 487-95.
 24. hams Alizadeh N, Mohsenpour B, Ghaderi E, Razaei F, Delavari A. Quality of life in 15-64 years old people in Kurdistan province, western part of Iran. *J Fundam Ment Health* 2010; 12(1): 448-56. [In Persian].
 25. Wijnhoven HA, Kriegsman DM, Hesselink AE, Penninx BW, de HM. Determinants of different dimensions of disease severity in asthma and COPD: pulmonary function and health-related quality of life. *Chest* 2001; 119(4): 1034-42.
 26. Bak-Drabik K, Ziara D. The impact of socioeconomic status on the quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Pneumonol Alergol Pol* 2010; 78(1): 3-13.
 27. Carrasco GP, de Miguel DJ, Rejas GJ, Centeno AM, Gobartt VE, Gil de MA, et al. Negative impact of chronic obstructive pulmonary disease on the health-related quality of life of patients. Results of the EPIDEPOC study. *Health Qual Life Outcomes* 2006; 4: 31.
 28. Carrasco-Garrido P, de Miguel-Diez J, Rejas-Gutierrez J, Martin-Centeno A, Gobartt-Vazquez E, Hernandez-Barrera V, et al. Characteristics of chronic obstructive pulmonary disease in Spain from a gender perspective. *BMC Pulm Med* 2009; 9: 2.

29. Leander M, Lampa E, Janson C, Svardsudd K, Uddenfeldt M, Rask-Andersen A. Determinants for a low health-related quality of life in asthmatics. *Ups J Med Sci* 2012; 117(1): 57-66.
30. Feizi A, Aliyari R, Roohafza H. Association of perceived stress with stressful life events, lifestyle and sociodemographic factors: a large-scale community-based study using logistic quantile regression. *Comput Math Methods Med* 2012; 2012: 151865.
31. Voll-Aanerud M, Eagan TM, Wentzel-Larsen T, Gulsvik A, Bakke PS. Changes in respiratory symptoms and health-related quality of life. *Chest* 2007; 131(6): 1890-7.
32. Wheaton AG, Ford ES, Thompson WW, Greenlund KJ, Presley-Cantrell LR, Croft JB. Pulmonary function, chronic respiratory symptoms, and health-related quality of life among adults in the United States--National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2010. *BMC Public Health* 2013; 13: 854.
33. Voll-Aanerud M, Eagan TM, Plana E, Omenaas ER, Bakke PS, Svanes C, et al. Respiratory symptoms in adults are related to impaired quality of life, regardless of asthma and COPD: results from the European community respiratory health survey. *Health Qual Life Outcomes* 2010; 8: 107.
34. Monteagudo M, Rodriguez-Blanco T, Llagostera M, Valero C, Bayona X, Ferrer M, et al. Factors associated with changes in quality of life of COPD patients: a prospective study in primary care. *Respir Med* 2013; 107(10): 1589-97.

Factors Associated with Health-Related Quality of Life in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

Nasrin Fadaeeaghdam MSc¹, Akram Sadat Montazeri MSc², Daryadokht Masroor MSc³, Roqayeh Aliyari MSc⁴, Azam Hamidzadeh MSc⁵

Original Article

Abstract

Background: Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a spectrum of pathological changes in the respiratory system associated with dyspnea, cough and sputum production. The main objectives of management the disease are reducing the symptoms and improving quality of life. The present study aimed to determine the impact of respiratory symptoms on health-related quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease.

Methods: This cross-sectional descriptive study was conducted in 2013 with participation of 331 patients with chronic obstructive pulmonary disease in educational hospitals of Tehran city, Iran, chosen by available sampling. Data was collected using demographic variables questionnaire, St. George's Respiratory Questionnaire (symptoms section) and SF-36 health related quality of life questionnaire. Using independent t-test, Spearman correlation ratio, ANOVA and multivariate analysis of covariance, the data were analyzed.

Findings: In presence of age and duration of disease variables, the symptoms of dyspnea, acute episodes of breathlessness and wheezing were significantly associated with physical health ($P = 0.049$). Reduced quality of life score and increased respiratory symptoms had a direct relation with chronicity of disease, concomitant usage of two drug categories and increase in the number of admissions ($P = 0.011$).

Conclusion: The use of appropriate approaches to health care and quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease is recommended.

Keywords: Respiratory symptoms, Health-related quality of life, Chronic obstructive pulmonary disease

Citation: Fadaeeaghdam N, Montazeri AS, Masroor D, Aliyari R, Hamidzadeh A. **Factors Associated with Health-Related Quality of Life in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(326): 275-86

1- Instructor, Department of Medical-Surgical Nursing, School of Nursing and Midwifery, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

2- Center for Health-Related Social and Behavioral Sciences Research, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

3- Instructor, Department of Medical-Surgical Nursing, School of Nursing and Midwifery, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Instructor, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

5- Instructor, Department of Midwifery, School of Nursing and Midwifery, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

Corresponding Author: Akram Sadat Montazeri, Email: montazeri@shmu.ac.ir

بررسی اثر بخشی ونلافاکسین و توپیرامات در کاهش سردردهای میگرنی در بیماران با Electroencephalogram غیر طبیعی

دکتر فریبرز خوروش^۱، صالحه عباسیان^۲، علی مهربانی کوشکی^۳، دکتر مجید قاسمی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیماری میگرن یکی از شایع‌ترین بیماری‌های نورولوژیک بشر محسوب می‌شود و هر چند، روش‌های درمانی متعددی برای آن ارائه شده ولی هنوز درمان قطعی برای آن یافت نشده است. توپیرامات (یک داروی ضد تشنج) و ونلافاکسین (یک مهار کننده بازجذب سروتونین و نوراپی نفرین) دو دارویی هستند که به طور مستقل در درمان میگرن مورد بررسی قرار گرفته‌اند ولی اثرات آن‌ها مقایسه نشده است. با توجه به سهولت دسترسی به دو داروی مذکور در بازار دارویی کشور، و نیز قابلیت رقابت هر دو دارو از نظر اقتصادی و عوارض دارویی، مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی تأثیر ونلافاکسین و توپیرامات در درمان سردردهای میگرن در بیماران با Electroencephalogram (EEG) غیر طبیعی به انجام رسید.

روش‌ها: این مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی در سال ۱۳۹۳ در کلینیک نور و امام موسی صدر اصفهان به انجام رسید. در این مطالعه، ۱۱۰ بیمار مبتلا به میگرن با EEG غیر طبیعی انتخاب و پس از اخذ موافقت برای شرکت در مطالعه، در دو گروه ۵۵ نفره توزیع شدند. گروه اول تحت درمان با توپیرامات و گروه دوم تحت درمان با ونلافاکسین قرار گرفتند. پس از ۶ هفته درمان، مدت، شدت و طول مدت سردرد در دو گروه با یکدیگر مقایسه شد.

یافته‌ها: قبل از درمان، شدت، دفعات و مدت سردرد در دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت ($P > 0/05$) ولی بعد از درمان، شدت سردرد در گروه دریافت کننده ونلافاکسین به طور معنی‌داری کمتر بود. بعد از مداخله، دفعات و مدت سردرد نیز در بین دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری: برابر نتایج این مطالعه، داروی ونلافاکسین دارای کارایی بهتری در درمان میگرن است و در صورتی که عدم وجود منع مصرف، استفاده از آن در بیماران مبتلا به میگرن توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: میگرن، ونلافاکسین، توپیرامات

ارجاع: خوروش فریبرز، عباسیان صالحه، مهربانی کوشکی علی، قاسمی مجید. بررسی اثر بخشی ونلافاکسین و توپیرامات در کاهش

سردردهای میگرنی در بیماران با Electroencephalogram غیر طبیعی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۶): ۲۸۷-۲۹۳

مقدمه

میگرن به دو دسته‌ی با و بدون اورا تقسیم می‌شود (۱). میگرن با بعضی از بیماری‌های روان‌پزشکی و نورولوژی نیز ارتباط دارد که نمونه‌ی آن، سندرم پاهای بی‌قرار است؛ ثابت شده است در افراد مبتلا به

میگرن به طور معمول با تغییرات نورولوژیک، گوارشی و اتونوم همراه بوده، اغلب یک طرفه و ضربان‌دار است. با توجه به شاخص‌های تشخیصی،

۱- استادیار، گروه داخلی اعصاب، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی و کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- اپیدمیولوژیست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استادیار، گروه داخلی اعصاب، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

مهارکننده‌های بازجذب سروتونین و نوراپی‌نفرین است که برای درمان اختلال افسردگی اساسی، اختلال اضطراب فراگیر و سایر اختلالات اضطرابی همراه با افسردگی تجویز می‌شود. ونلافاکسین برای درمان اختلال افسردگی ماژور و اختلال اضطراب فراگیر، تأیید شده است. دوزهای بالای ونلافاکسین برای درمان افراد مبتلا به بیماری شدیدی که نیاز به پاسخ سریع دارند، ترجیح داده می‌شود (۲۶).

توپیرامات از دسته‌ی داروهای ضد تشنج است که در درمان تشنج و صرع، در تشنجات پارشیال، تونیک و کلونیک ژنرالیزه‌ی اولیه در بزرگسالان و کودکان با سن بالاتر از ۲ سال، انواع سندرم‌های صرعی، پیش‌گیری از حملات میگرن و درمان اختلالات دو قطبی، افسردگی، اسکیزوفرنی، اختلال استرسی پس از سانحه (Posttraumatic stress disorder) یا PTSD) و اختلالات مربوط به خوردن (Eating disorder) مصرف می‌شود. مکانیسم اثر این دارو به طور دقیق شناخته نشده است (۲۶).

با توجه به این که سهولت دسترسی به دو داروی مذکور در بازار دارویی کشور وجود داشته، از نظر اقتصادی و عوارض دارویی نیز هر دو دارو قابل رقابت هستند، مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه تأثیر ونلافاکسین و توپیرامات در درمان سردردهای میگرن در بیماران با Electroencephalogram (EEG) غیرطبیعی به انجام رسید.

روش‌ها

این پژوهش، یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی بود که در سال ۱۳۹۳ در کلینیک نور و امام موسی صدر اصفهان انجام شد. جامعه‌ی آماری مورد مطالعه شامل بیماران

این سندرم، میگرن کلاسیک شیوع بالاتری نسبت به افراد جمعیت عادی دارد (۲).

میگرن در زنان شیوع بالاتری دارد و حتی طبق بعضی از گزارش‌ها شدت سردردها نیز در زنان بسیار شدیدتر از مردان می‌باشد (۳). همچنین، مطالعات مختلف حاکی از وجود اساس ژنتیک برای میگرن است و تا کنون، ۳ ژن مرتبط با میگرن بر روی کروموزوم‌های ۱۹-۱ شناسایی شده و نیز گزارش شده است که میگرن بدون اورا، با ژن موجود بر روی کروموزوم p361 مرتبط است (۴).

فعالیت الکتریکی نوروها در سطح جمجمه، سبب شکل‌دهی فعالیت الکتریکی مغز با عنوان امواج مغزی می‌شود (۴). امواج مغزی انواع و کارکردهای متفاوتی دارند و بر حسب فرکانس، به انواع مختلف تقسیم می‌شوند (امواج سریع‌تر دارای فرکانس بیشتر و امواج آهسته، دارای فرکانس کمتر هستند). همه‌ی این امواج در تمام اوقات وجود دارند؛ اما در شرایط مختلف کارکردی، غلبه با موج خاصی است و در برخی مطالعات نشان داده شده است که این اختلاف امواج مختلف مغزی، در بیماران مبتلا به میگرن در زمان وقوع حمله‌ی میگرنی متفاوت می‌گردد (۴).

با توجه به شیوع بالای میگرن در جوامع مختلف، تا کنون تحقیقات وسیعی در مورد روش‌های درمان این بیماری انجام گرفته و روش‌های درمانی مختلفی برای آن ارایه شده است. ونلافاکسین یک داروی ضدافسردگی و توپیرامات یک داروی ضد تشنج است که اثر آن‌ها در درمان میگرن به طور مستقل مورد بررسی قرار گرفته، ولی اثر درمانی این دو دارو مقایسه نشده است.

ونلافاکسین یک داروی ضدافسردگی از گروه

روزانه یک عدد قرص توپیرامات ۵۰ میلی گرمی به مدت ۶ هفته دریافت نمودند؛ در پایان هفته‌ی ششم، شدت، مدت و تعداد حملات میگرن در دو گروه بررسی و مورد مقایسه قرار گرفت. قابل ذکر است که شدت سردرد در بیماران طبق معیار (VAS) Visual analog scale مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. اطلاعات به دست آمده از مطالعه، در نهایت با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, SPSS Inc., Chicago, IL) تجزیه و تحلیل گردید. آزمون‌های آماری مورد استفاده جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها شامل آزمون χ^2 ، t، آنالیز واریانس یک طرفه، آزمون همبستگی Spearman و Kruskal-Wallis بود.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۲۰ بیمار مبتلا به میگرن در دو گروه دریافت کننده‌ی ونلافاکسین و توپیرامات مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند که در خلال مطالعه، ۵ بیمار از هر گروه به علت عدم مراجعه‌ی بعدی با وجود پی‌گیری و یا بروز عوارض دارویی، از مطالعه خارج شدند. میانگین سنی دو گروه دریافت کننده‌ی ونلافاکسین و توپیرامات به ترتیب $33/2 \pm 8/3$ و $32/7 \pm 7/6$ سال بود و طبق آزمون t، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ($P = 0/77$). نسبت جنسی (زن/مرد) در دو گروه ونلافاکسین و توپیرامات به ترتیب $9/46$ و $16/39$ بود و طبق آزمون χ^2 ، تفاوت بین دو گروه معنی‌دار نبود ($P = 0/11$). در جدول ۱، میانگین شدت، دفعات و طول مدت سردرد در قبل و ۶ هفته بعد از درمان در دو گروه مورد مطالعه نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که

مبتلا به میگرن با نوار مغزی غیرطبیعی مراجعه کننده‌ی به این مرکز در طی سال ۱۳۹۳ بودند. معیارهای ورود به مطالعه شامل ابتلای تأیید شده به میگرن، EEG غیرطبیعی، موافقت فرد برای شرکت در مطالعه، عدم ابتلا به بیماری‌های نورولوژیک و عدم حساسیت به توپیرامات، ونلافاکسین و ترکیبات مشابه بود. همچنین مقرر گردید، در صورت بروز حساسیت به ونلافاکسین و یا توپیرامات، عدم مراجعات بعدی بیمار، مصرف نامرتب دارو و استفاده از روش‌های درمانی دیگر در خلال مطالعه، بیمار از مطالعه خارج شود.

حجم نمونه‌ی مورد نیاز این مطالعه با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مقایسه‌ی دو میانگین و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، توان آزمون ۸۰ درصد، انحراف معیار شدت سردرد که حدود ۱/۵ برآورد شد (۵) و حداقل تفاوت معنی‌دار بین دو گروه که به میزان ۰/۸ در نظر گرفته شد، ۵۵ نفر در هر گروه برآورد گردید که جهت اطمینان بیشتر، ۶۰ بیمار در هر گروه مورد مطالعه قرار گرفتند. روش کار بدین صورت بود که بعد از تصویب پروپوزال و اخذ موافقت کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه، ۱۲۰ بیمار دارای معیارهای ورود، به ترتیب مراجعه به بیمارستان، به روش تصادفی سازی بلوکی در دو گروه ۶۰ نفره توزیع شدند. در ابتدا، اطلاعات دموگرافیک و اطلاعات مربوط به بیماری و ویژگی‌های سردرد میگرن، نظیر شدت، مدت و فرکانس و نوع آن، از بیماران سؤال و در پرسشنامه‌ی ویژه‌ای که به همین منظور تهیه گردید، ثبت شد. بیماران گروه اول، روزانه یک عدد قرص ۳۷/۵ میلی گرمی ونلافاکسین و بیماران گروه دوم،

قبل و بعد از مداخله درمانی در دو گروه نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که تخفیف علائم بالینی در گروه دریافت کننده‌ی ونلافاکسین بیشتر از گروه توپیرامات بوده است؛ ولی بر حسب آزمون دقیق Fisher، توزیع فراوانی علائم بالینی در قبل و بعد از درمان، در دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت ($P > 0/05$).

بحث

هدف کلی از انجام این مطالعه، مقایسه تأثیر دو داروی ونلافاکسین و توپیرامات در درمان و بهبود علائم میگرن در بیماران مبتلا به میگرن با EEG غیرطبیعی بود. بیماران دو گروه دریافت کننده‌ی ونلافاکسین و توپیرامات از نظر ویژگی‌های دموگرافیک اختلاف معنی‌دار نداشتند و اثر مخدوش کننده‌ای از عوامل فوق، در مطالعه مشاهده نشد.

در این مطالعه، هر سه پارامتر شدت سردرد، دفعات سردرد در ماه و مدت زمان سردرد به عنوان سه نشانگر شدت میگرن در قبل و بعد از درمان مورد بررسی قرار گرفت که طبق نتایج به دست آمده، هر سه پارامتر مذکور بعد از درمان، در بیماران تخفیف پیدا کرد؛ ولی بیماران دریافت کننده‌ی ونلافاکسین کاهش بیشتری در شدت سردرد داشتند.

شدت، دفعات و مدت سردرد قبل از درمان، بین دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشته ولی بعد از درمان، شدت سردرد در گروه دریافت کننده‌ی ونلافاکسین به طور معنی‌داری کمتر بوده است. دفعات و مدت سردرد بعد از مداخله نیز در بین دو گروه اختلاف معنی‌داری نداشته است.

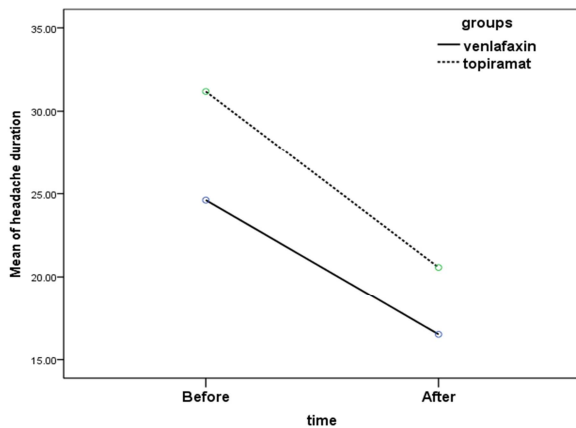
انجام آزمون آنالیز واریانس یک طرفه با تکرار مشاهدات بر روی یافته‌ها نشان داد که تغییرات شدت سردرد در گروه دریافت کننده‌ی ونلافاکسین بیشتر از گروه توپیرامات بوده است ($P = 0/01$)؛ ولی بر اساس همان آزمون، تغییرات دفعات سردرد در هر دو گروه به میزان مشابهی کاهش یافته بود ($P = 0/52$).

همچنین بر حسب آزمون آنالیز واریانس یک طرفه با تکرار مشاهدات، تغییرات مدت زمان سردرد نیز در دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت ($P = 0/09$). در نمودارهای ۱ تا ۳، تغییرات شدت، دفعات و مدت سردرد در دو گروه مورد مطالعه نشان داده شده است. قابل ذکر است که بر حسب آزمون آنالیز واریانس یک طرفه با تکرار مشاهدات، متغیرهای سن و جنس بیماران تأثیر معنی‌داری در تغییرات شدت، دفعات و مدت سردرد نداشتند ($P > 0/05$).

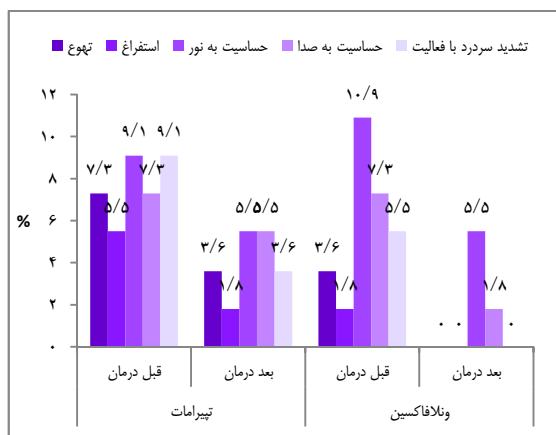
در نمودار ۴، درصد فراوانی علائم همراه میگرن در

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار شدت دفعات و مدت سردرد در دو گروه مورد مطالعه

متغیر	زمان	گروه ونلافاکسین	گروه توپیرامات	مقدار P
شدت سردرد	قبل از درمان	$7/16 \pm 0/81$	$7/40 \pm 0/78$	0/12
	بعد از درمان	$4/67 \pm 2/02$	$5/54 \pm 1/91$	0/03
دفعات حمله‌ی میگرن در ماه	قبل از درمان	$7/24 \pm 4/82$	$7/42 \pm 6/43$	0/87
	بعد از درمان	$3/57 \pm 2/37$	$4/00 \pm 3/27$	0/46
مدت سردرد	قبل از درمان	$24/58 \pm 18/60$	$29/15 \pm 18/94$	0/21
	بعد از درمان	$16/51 \pm 2/08$	$20/57 \pm 2/36$	0/20



نمودار ۳. مقایسه‌ی میانگین مدت سردرد در قبل و بعد مداخله در دو گروه مورد مطالعه



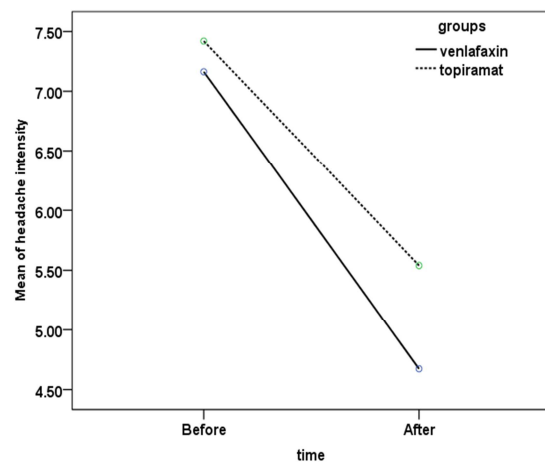
نمودار ۴. مقایسه‌ی درصد فراوانی علائم همراه میگرن در قبل و بعد از مداخله در دو گروه مورد مطالعه

تشکر و قدردانی

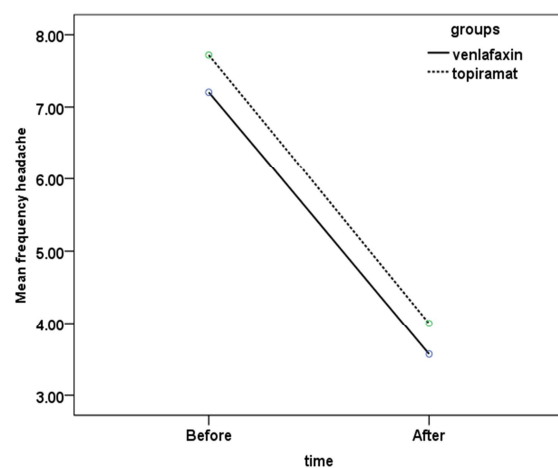
این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای صالحه عباسیان در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است که در معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به تصویب رسید و با حمایت‌های علمی و مالی این معاونت اجرا شد. پژوهشگران، از حمایت‌های بی‌دریغ و همه‌جانبه‌ی ایشان تقدیر و تشکر می‌نمایند.

همچنین، علائم همراه میگرن در بیماران دریافت‌کننده‌ی ونلافاکسین به مقدار بیشتری (ولی نه در سطح معنی‌دار) کاهش پیدا کرد.

به طور کلی، هر چند که هر دو دارو دارای تأثیر درمانی مناسب در بیماران مبتلا به میگرن بودند، ولی ونلافاکسین دارای کارایی بیشتری، به ویژه در شدت سردرد، بود.



نمودار ۱. مقایسه‌ی میانگین شدت سردرد در قبل و بعد مداخله در دو گروه مورد مطالعه



نمودار ۲. مقایسه‌ی میانگین دفعات سردرد در قبل و بعد از مداخله در دو گروه مورد مطالعه

References

1. Dash AK, Panda N, Khandelwal G, Lal V, Mann SS. Migraine and audiovestibular dysfunction: is there a correlation? *Am J Otolaryngol* 2008; 29(5): 295-9.
2. Charles A. Advances in the basic and clinical science of migraine. *Ann Neurol* 2009; 65(5): 491-8.
3. Harno H, Hirvonen T, Kaunisto MA, Aalto H, Levo H, Isotalo E, et al. Subclinical vestibulocerebellar dysfunction in migraine with and without aura. *Neurology* 2003; 61(12): 1748-52.
4. Allena M, Magis D, De Pasqua V, Schoenen J, Bisdorff AR. The vestibulo-collic reflex is abnormal in migraine. *Cephalalgia* 2007; 27(10): 1150-5.
5. Mierzwinski J, Pawlak-Osinska K, Kazmierczak H, Korbal P, Muller M, Piziewicz A, et al. The vestibular system and migraine in children. *Otolaryngol Pol* 2000; 54(5): 537-40. [In Polish].
6. Zhou G, Cox LC. Vestibular evoked myogenic potentials: history and overview. *Am J Audiol* 2004; 13(2): 135-43.
7. Ferber-Viart C, Dubreuil C, Duclaux R. Vestibular evoked myogenic potentials in humans: a review. *Acta Otolaryngol* 1999; 119(1): 6-15.
8. Hall JW. Handbook of auditory evoked responses. 2nd ed. Boston, MA: Pearson; 2007.
9. Liao LJ, Young YH. Vestibular evoked myogenic potentials in basilar artery migraine. *Laryngoscope* 2004; 114(7): 1305-9.
10. Roceanu A, Allena M, De Pasqua V, Bisdorff A, Schoenen J. Abnormalities of the vestibulo-collic reflex are similar in migraineurs with and without vertigo. *Cephalalgia* 2008; 28(9): 988-90.
11. Ghali AA, Kolkaila EA. Migrainous vertigo: clinical and vestibular evoked myogenic potential (VEMP) findings. *Egypt J Neurol Psychiat Neurosurg* 2005; 42(2): 341-50.
12. Wu ZM, Zhang SZ, Zhou N, Liu XJ, Ji F, Chen AT, et al. Neurootological manifestation of migrainous vertigo. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 2006; 41(10): 726-30. [In Chinese].
13. Baier B, Stieber N, Dieterich M. Vestibular-evoked myogenic potentials in vestibular migraine. *J Neurol* 2009; 256(9): 1447-54.
14. International Headache Society. Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. Headache Classification Committee of the International Headache Society. *Cephalalgia* 1988; 8(Suppl 7): 1-96.
15. Vanspauwen R, Wuyts FL, Van De Heyning PH. Validity of a new feedback method for the VEMP test. *Acta Otolaryngol* 2006; 126(8): 796-800.
16. Vanspauwen R, Wuyts FL, Van De Heyning PH. Improving vestibular evoked myogenic potential reliability by using a blood pressure manometer. *Laryngoscope* 2006; 116(1): 131-5.
17. Sandhu JS, Bell SL. Effects of eye position on the vestibular evoked myogenic potential. *Acta Otolaryngol* 2009; 129(2): 175-8.
18. Zapala D. The VEMP: ready for the clinic. *Hear J* 2007; 60(3): 10,14,16-8,20.
19. Parker W. Migraine and the vestibular system in adults. *Am J Otol* 1991; 12(1): 25-34.
20. Hamel E. Serotonin and migraine: biology and clinical implications. *Cephalalgia* 2007; 27(11): 1293-300.
21. Cass SP, Furman JM, Ankerstjerne K, Balaban C, Yetiser S, Aydogan B. Migraine-related vestibulopathy. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997; 106(3): 182-9.
22. Murofushi T, Ozeki H, Inoue A, Sakata A. Does migraine-associated vertigo share a common pathophysiology with Meniere's disease? Study with vestibular-evoked myogenic potential. *Cephalalgia* 2009; 29(12): 1259-66.
23. Murofushi T, Shimizu K, Takegoshi H, Cheng PW. Diagnostic value of prolonged latencies in the vestibular evoked myogenic potential. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 127(9): 1069-72.
24. Welgampola MS, Colebatch JG. Characteristics and clinical applications of vestibular-evoked myogenic potentials. *Neurology* 2005; 64(10): 1682-8.
25. Afridi SK, Matharu MS, Lee L, Kaube H, Friston KJ, Frackowiak RS, et al. A PET study exploring the laterality of brainstem activation in migraine using glyceryl trinitrate. *Brain* 2005; 128(Pt 4): 932-9.
26. Brunton L, Chabner B, Knollman B. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 12th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2011.

The Effect of Venlafaxine and Topiramate in Reducing Migraine Headaches in Patients with Abnormal Electroencephalogram

Fariborz Khorvash MD¹, Saleheh Abbasian², Ali Mehrabi-Koushki MSc³,
Madjeed Ghasemi MD⁴

Original Article

Abstract

Background: Migraine disease is one of the most common human neurological diseases; although several methods have been proposed for it, but still, there is not any cure found for it. The drugs topiramate (an anticonvulsant) and venlafaxine [a serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor (SNRI)] have been studied independently in the treatment of migraine, but their effects have not been compared. Due to the ease of access to venlafaxine and topiramate in pharmaceutical market and that the economy and side-effects of both drugs are competitive, this study aimed to compare the effects of venlafaxine and topiramate in the treatment of migraine headaches in patients with abnormal electroencephalogram (EEG).

Methods: This clinical trial study was done in Noor and Imam Mousa Sadr clinic in Isfahan, Iran, during 2014. 110 patients with migraine and abnormal electroencephalogram were selected for the study after obtaining informed consent. They were distributed in two groups; group 1 received topiramate and the second group venlafaxine. After receiving 6 weeks of treatment, the duration, intensity and frequency of headache in the two groups were compared.

Findings: Prior to the treatment, the intensity, frequency and duration of headache were not significantly different between the two groups ($P > 0.05$); but after the treatment, pain intensity was significantly lower in the group receiving venlafaxine. After the intervention, the frequency and duration of headaches were not significantly different between the two groups, too ($P > 0.05$).

Conclusion: This study showed that the drug venlafaxine has better performance in the treatment of migraine and when there are no contraindications for its use, is recommended in patients with migraine.

Keywords: Migraine, Venlafaxine, Topiramate

Citation: Khorvash F, Abbasian S, Mehrabi-Koushki A, Ghasemi M. **The Effect of Venlafaxine and Topiramate in Reducing Migraine Headaches in Patients with Abnormal Electroencephalogram.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(326): 287-93

1- Assistant Professor, Department of Neurology, Isfahan Neuroscience Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

3- Epidemiologist, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Neurology, Isfahan Neuroscience Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Madjeed Ghasemi MD, Email: m_ghasemi@med.mui.ac.ir

بررسی تأثیر عصاره‌ی رازیانه در پیش‌گیری از اختلال حافظه‌ی ناشی از اسکوپولامین در موش سوری نر

دکتر آزاده مصری‌پور^۱، زهرا علی بابایی^۲، عاطفه عمادی^۳، دکتر محمد رضا حجتی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: استروژن از جمله هورمون‌های استروئیدی است که علاوه بر اثرات شناخته شده‌ی آن بر جنس ماده، اثرات مفیدی نیز بر روی حافظه دارد. گیاه رازیانه حاوی ترکیبات فیتواستروژنی می‌باشد و احتمال دارد که این گیاه از این طریق بتواند اثرات مثبتی بر حافظه داشته باشد. این تحقیق به منظور بررسی اثرات رازیانه بر بهبود حافظه انجام شد.

روش‌ها: حافظه، به کمک روش بررسی شیء جدید در موش‌های سوری نر نژاد Balb-c بررسی شد. این روش شامل سه مرحله‌ی خوگیری، یادگیری (T₁) و آزمایش حافظه (T₂) می‌باشد. در این روش، اختلاف زمانی که حیوان صرف شناسایی شیء قدیمی (F) و شیء جدید (N) می‌کند، به عنوان معیاری جهت ارزیابی حافظه استفاده می‌شود: شاخص تشخیص (Recognition index یا RI) = $[(N - F) / (N + F)] \times 100$.

یافته‌ها: تخریب حافظه به دنبال تزریق زیرجلدی ۰/۵ mg/kg اسکوپولامین ایجاد شد $[RI (\%) = -16/0 \pm 3/0]$. عصاره‌ی رازیانه (۵ دقیقه قبل از T₁) به میزان قابل توجهی مانع از اختلال حافظه گردید $[RI (\%) = 35/0 \pm 7/1]$ و حافظه‌ی حیوانات به حدود حافظه‌ی حیوانات سالم $[RI (\%) = 50/0 \pm 5/9]$ رسید. به علاوه، تزریق داخل صفاقی ۰/۲ mg/kg از ۱۷ تا استرادیول نتایج مشابهی به همراه داشت $[RI (\%) = 36/0 \pm 6/6]$ و لیتزریق داخل صفاقی ۰/۱ mg/kg تاموکسیفن اثرات مفید رازیانه در بهبود حافظه را از بین برد $[RI (\%) = -29/0 \pm 7/1]$.

نتیجه‌گیری: اثرات مفید رازیانه بر حافظه از طریق گیرنده‌های استروژنی در مغز صورت می‌گیرد؛ به صورتی که، تحریک این گیرنده‌ها منجر به افزایش سطح استیل کولین می‌شود. به همین دلیل، از اثرات آنتاگونیستی اسکوپولامین بر گیرنده‌های کلینرژیک به صورت رقابتی ممانعت می‌کند.

واژگان کلیدی: فیتواستروژن، رازیانه، استروژن، حافظه

ارجاع: مصری‌پور آزاده، علی بابایی زهرا، عمادی عاطفه، حجتی محمد رضا. بررسی تأثیر عصاره‌ی رازیانه در پیش‌گیری از اختلال

حافظه‌ی ناشی از اسکوپولامین در موش سوری نر. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۶): ۲۹۴-۳۰۴

مقدمه

نظر فیزیولوژیک، حافظه توسط تغییرات توانایی انتقال سیناپسی از یک نورون به نورون دیگر در نتیجه‌ی فعالیت عصبی قبلی ایجاد می‌شود. این تغییرات به نوبه‌ی خود، موجب تولید مسیرهای

حافظه از جنبه‌های مهم شناخت است که به فرد اجازه‌ی جمع‌آوری اطلاعات را می‌دهد و فرد را قادر می‌سازد از این اطلاعات در موقع نیاز استفاده کند. از

۱- استادیار، گروه فارماکولوژی و توکسیکولوژی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- کارشناس، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴- دانشیار، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

استروژن در غلظت‌های کم و زیاد باعث کاهش عملکرد فضایی می‌شود؛ اما در یک غلظت متوسط، یادگیری و حافظه‌ی فضایی را بهبود می‌بخشد (۹).

فیتواستروژن‌ها ترکیبات پلی‌فنلی غیراستروئیدی گیاهی می‌باشند که عملکرد بیولوژیک مشابه با استروژن دارند. بر اساس ساختمان شیمیایی، می‌توان آن‌ها را به ۴ گروه عمده تقسیم کرد که شامل ایزوفلاونوئیدها، فلاونوئیدهای پرنیله، لیگنان‌ها و استیل‌بن‌ها می‌باشند. مصرف فیتواستروژن‌ها در درمان بیماری‌های وابسته به سن مانند بیماری‌های قلبی-عروقی، پوکی استخوان و علائم یائسگی، مانند گرگرفتگی، کاربرد دارد (۱۰). به تازگی، مطالعات تجربی و اپیدمیولوژیک پیشنهاد می‌کنند که مصرف رژیم‌های غذایی غنی از فیتواستروژن ممکن است اثرات محافظتی در برابر شرایط وابسته به استروژن مثل قاعدگی، بیماری‌های وابسته به استروژن مثل پروستات و سرطان سینه داشته باشد. گیاهان خانواده‌ی نخود، به خصوص سویا، همچنین دانه‌ی کتان، رازک، شوید و رازیانه مثالی از گیاهان محتوی فیتواستروژن‌ها هستند (۱۱).

رازیانه گیاهی از خانواده چتریان و از جمله گیاهان حاوی فیتواستروژن‌ها است که کاربرد درمانی وسیعی در رفع اختلالات ناشی از کمبود استروژن دارد. ترکیبات شاخص این گیاه، ترانس‌آنتول، لیمون و فنچون هستند (۱۲). رازیانه گیاهی سرشار از فیتواستروژن‌ها شامل لیگنان است. لیگنان‌ها گروهی از ترکیبات فنیل پروپانوئیدی دی‌مری هستند. این ترکیبات آنتی‌اکسیدان در دانه‌ی کامل غلات، حبوبات و برخی سبزیجات و میوه‌ها نیز وجود دارند. مصرف ترکیبات مذکور به طور بارزی از بروز سرطان سینه،

جدید یا مسیرهای تسهیل شده برای انتقال سیگنال‌ها از طریق مدارهای عصبی مغز می‌شوند (۱). پیش‌تر نشان داده شده است که هورمون‌های استروئیدی نظیر کورتیزول نیز بر حافظه تأثیر می‌گذارد. استفاده از کورتیکواستروئیدها باعث ایجاد تغییرات ساختمانی و عملکردی در لوب تمپورال مغز می‌شود (۲).

اثرات گلوکوکورتیکوئیدها بر یادگیری و حافظه، وابسته به دوز می‌باشد. دوز بالای کورتیکواستروئیدها در کوتاه‌مدت باعث کاهش حافظه و یادگیری می‌شود (۳). به علاوه، مهار اثر گلوکوکورتیکوئیدها مانع از این اختلال حافظه شده است (۴). اثر استروژن بر سیستم عصبی توسط پژوهشگران مختلف بررسی شده است؛ از جمله اثراتی که برای استروژن شناخته شده است، افزایش انعطاف‌پذیری در بخش‌های مختلف سیستم عصبی و دخالت در پدیده‌هایی مانند تولید مثل، درد و حافظه است. برخی از پژوهش‌گران برای استروژن نقش نورومدولاتوری را محتمل می‌دانند (۵). همچنین، تجویز استروژن تراکم خا‌رهای دندردیتی را در برش‌های مغزی موش‌های نر افزایش می‌دهد (۶).

مطالعات متعددی در مورد استروئیدهای جنسی و اثرات آن بر سیستم اعصاب مرکزی (CNS یا Central nervous system) انجام شده است که نتایج متناقضی از تستوسترون و استروژن را بر حافظه و یادگیری فضایی نشان می‌دهد. عده‌ای معتقدند که تستوسترون و استروژن باعث کاهش و تخریب حافظه و یادگیری می‌شوند (۷). در مقابل، گروهی بر این نکته پا فشاری می‌کنند که هورمون‌های جنسی باعث بهبود حافظه و یادگیری می‌گردند (۸). علاوه بر گزارش‌های فوق، نشان داده شده است که

شهرکرد انجام شد. از هر کدام از موش‌ها فقط یک بار استفاده شد و موش‌ها بلافاصله بعد از اتمام آزمایش، کشته شدند.

در این مطالعه، بررسی حافظه به کمک روش Novel object recognition (NOR) یا بررسی شیء جدید انجام شد. آزمایشات رفتاری و تست مربوط به حافظه برای دریافت بهترین نتیجه، در محیطی کاملاً آرام انجام شد و فضای اتاق، نیمه تاریک بود. جهت به حداقل رساندن استرس و بهبود نتایج رفتاری، حیوانات قبل از روز خوگیری، حداقل دو روز در محیط آزمایشگاه نگهداری شدند (۴). این روش، بر اساس تمایل ذاتی حیوان جهت شناخت شیء جدید است (۱۴) و در این آزمایش، از تمایل ذاتی حیوان جهت شناسایی اشیاء استفاده شد.

به طور خلاصه، دستگاه، یک فضای باز مکعبی به ابعاد $40 \times 35 \times 35$ سانتی‌متر با دیواره‌ی سیاه، کف سفید و بدون سقف بود. اشیای مختلف از نظر شکل و رنگ با جنس یکسان در آزمایش استفاده شدند. یک روز قبل از آزمایش، هر حیوان در حضور ۲ شیء یکسان، حداقل ۱۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار گرفت. این مرحله، مرحله‌ی خوگیری حیوان (Habituation) بود. در روز آزمایش (۲۴ ساعت بعد)، در مرحله‌ی اول (مرحله‌ی یادگیری یا T_1)، حیوانات هر کدام در حضور ۲ شیء یکسان در دستگاه حافظه قرار گرفتند و مدت زمانی که طول می‌کشد تا اشیاء شناسایی شوند، به ثابته ثبت شد (تحت عنوان زمان T_1). شناسایی زمانی بود که حیوان بینی‌اش را به سمت شیء با فاصله‌ی کمتر از ۲ سانتی‌متر می‌رساند و با نگاه کردن و بو کردن، به شیء توجه می‌کند. حیوان طبیعی، زمان کمتری جهت

سرطان پروستات و ریزش مو می‌کاهد (۱۳). استروژن، علاوه بر اثر بر روی رفتار جنسی در پستانداران، بر روی سیستم اعصاب مرکزی و اعمال شناختی نیز مؤثر است. به تازگی، فیتواستروژن‌ها به خاطر نقش گسترده‌ای که در سلامتی دارند، تحت بررسی بیشتری قرار گرفته‌اند. استروژن‌ها بر عملکردهای شناختی (حافظه) نقش دارند و گیاه رازیانه هم به علت دارا بودن ترکیبات فیتواستروژنی، در موارد مختلف کاربرد دارد؛ ولی اثر و نقش این گیاه بر روی حافظه تا کنون مطالعه نشده است. لذا، با توجه به فراوانی گیاه رازیانه و فیتواستروژن‌های موجود در آن و تمایل روز افزون به مصرف داروهای گیاهی، اثرات این گیاه بر حافظه مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

تمامی آزمایشات بین ساعت ۹ تا ۱۳ صورت گرفت. در مجموع، ۶۰ سر موش سوری نر نژاد Balb-c، با وزن بین ۲۵-۳۰ g مورد استفاده قرار گرفتند. در هر گروه، ۶ موش مورد مطالعه قرار گرفت. این گروه‌ها به شرح زیر می‌باشند: ۱- گروه نرمال‌سالین، ۲- گروه اسکوپولامین + نرمال‌سالین، ۳- گروه رازیانه، ۴- گروه اسکوپولامین + رازیانه، ۵- گروه اسکوپولامین + استرادیول، ۶- گروه اسکوپولامین + رازیانه + تاموکسیفن، ۷- گروه اسکوپولامین + رازیانه + دارونما (DMSO یا Dimethyl sulfoxide)، ۸- گروه تاموکسیفن و ۹- گروه استرادیول.

ملاحظات اخلاقی بر اساس کار کردن صحیح با حیوان آزمایشگاهی و دستورالعمل تصویب شده‌ی اخلاقی کار با حیوانات در دانشگاه علوم پزشکی

شناسایی نیاز دارد؛ بدین معنی که اغلب، شناسایی در مدت کمتر از ۵ دقیقه کامل می‌شود (۴). در مرحله‌ی دوم، تحت عنوان مرحله‌ی آزمون حافظه یا T_2 ، که به فاصله‌ی ۲۰ دقیقه از مرحله اول صورت می‌گرفت، یکی از اشیای قدیمی (F یا Familial) با یک شیء جدید (N یا Novel) جایگزین می‌شد و حیوان به مدت ۵ دقیقه در دستگاه حافظه قرار گرفته، مدت زمانی که صرف شناسایی هر کدام از اشیاء می‌شد، ثبت می‌گردید. حیوانات طبیعی مدت زمان بیشتری صرف شناسایی شیء جدید می‌کنند (۱۴، ۴).

حیواناتی که از مطالعه حذف شدند شامل حیواناتی بود که در زمان مورد نظر T_1 (حداکثر ۱۲ دقیقه) نتوانستند شناسایی شیء را به اتمام برسانند، حیواناتی که حداقل زمان لازم جهت شناسایی اشیاء جدید و قدیمی در T_2 در آن‌ها کامل نشد (زمان شناسایی شیء جدید + شیء قدیم > 3 ثانیه) و حیواناتی که به طور ذاتی حس کنجکاوی کمی داشتند (۱۴، ۴).

اطلاعات مربوط به رفتار حیوان در دستگاه حافظه، توسط دوربینی که در بالای دستگاه نصب شده بود، ثبت شد. از اطلاعات ثبت شده، زمان‌های مربوط به آزمون‌های حافظه (T_1 و T_2) اندازه‌گیری شد و معیار تشخیص (RI یا Recognition index) محاسبه گردید (۴)؛ $RI = (N - F/N + F) \times 100$ که در آن F مساوی مدت زمان شناسایی شیء قدیمی و N برابر مدت زمان شناسایی شیء جدید بر حسب ثانیه است. مقادیر RI مثبت دلالت بر حافظه‌ی خوب و مقادیر نزدیک صفر و منفی دلالت بر اختلال حافظه دارد.

از آن جایی که آنتاگونیست‌های گیرنده‌ی

موسکاربینی اثر ثابت شده‌ای در ایجاد اختلال حافظه دارند (۱۵)، برای ایجاد اختلال حافظه از آمپول اسکوپولامین ۲۰ mg/ml از شرکت دارویی ایران اکسیر استفاده شد که با دوز ۰/۵ mg/kg بعد از T_1 ، به صورت زیرجلدی (SC یا Subcutaneous) تزریق گردید. عصاره‌ی رازیانه به صورت قطره‌ی آماده‌ی ۱۵ mg/ml از شرکت باریج اسانس تهیه شد. در روز آزمایش، ۱۵ دقیقه قبل از انجام T_1 ، موش‌های مورد نظر به میزان ۱۰ ml/kg عصاره‌ی رازیانه به ازای وزن بدن به صورت داخل صفاقی (IP یا Intraperitoneal) دریافت نمودند. به گروه شاهد، نرمال‌سالین تزریق شد. تزریق استرادیول نیز به همین صورت انجام گرفت؛ ۱۵ دقیقه قبل از انجام T_1 ، به موش‌های گروه مورد نظر، ۰/۲ از استرادیول ۱۰ mg/ml شرکت داروسازی ابوریحان به ازای وزن بدن به صورت IP تزریق شد (۱۶). قرص تاموکسیفن ۱۰ mg شرکت ایران هورمون، پس از انحلال در DMSO، ۳۰ دقیقه قبل از انجام T_1 به میزان ۱ mg/kg به ازای وزن بدن به صورت IP تزریق شد (۱۷). به گروه شاهد به جای تاموکسیفن، دارونما (DMSO) تزریق گردید (گروه ۷). جهت اندازه‌گیری غلظت استرادیول سرم در موش‌های تحت درمان با عصاره‌ی رازیانه و گروه شاهد، بعد از انجام آزمایش حافظه، خون‌گیری از حیوانات انجام شد و با سانتریفوژ، سرم تفکیک و تا روز آزمایش، در ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید.

استرادیول نمونه‌های سرم با استفاده از کیت (Enzyme-linked immunosorbent assay) ELISA اندازه‌گیری شد (مدل ۳۰۰-۴۹۲۵، شرکت Accu-Bind). در این روش، چاهک‌های میکروپلیت

با آنتی‌بادی منوکلونال ضد استرادیول پوشش داده شد. استرادیول سرم و استرادیول نشان‌دار (استرادیول آنزیم کنژوگه) به چاهک‌ها اضافه گردید. پس از یک ساعت، محتوی چاهک‌ها خالی و چاهک‌ها شست و شو داده شد. استرادیول سرم و استرادیول کنژوگه به صورت رقابتی به آنتی‌بادی جدار چاهک‌ها اتصال می‌یابد. با افزودن محلول سوبسترا (کوموژن)، رنگ آبی پدید آمد؛ سپس، با اضافه کردن محلول متوقف کننده، رنگ آبی به زرد تبدیل شد. شدت رنگ زرد حاصل، ارتباط معکوس با غلظت استرادیول موجود در نمونه‌ها داشت. رنگ حاصل در طول موج ۴۵۰ نانومتر، در برابر طول موج رفرانس ۶۳۰ نانومتر در دستگاه ELISA خوانده شد و مقادیر استرادیول نمونه‌ها بر اساس غلظت‌های استاندارد کیت، محاسبه گردید.

نتایج در گروه‌ها به صورت میانگین گروه \pm انحراف معیار محاسبه شد و به کمک روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (Analysis of variance) یا ANOVA با آزمون Tukey's Post-hoc مورد ارزیابی قرار گرفت. مقادیر استرادیول پلاسما از طریق آزمون Student-t مورد مقایسه قرار گرفت. مقادیر $P < 0/05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. بیان نتایج آماری و رسم نمودار، با استفاده از نرم‌افزار Prism₅ GraphPad (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA) انجام گرفت.

یافته‌ها

متوسط زمان یادگیری در موش‌های دریافت کننده هر کدام از داروهای رازیانه، استرادیول و دارونما به تنهایی تفاوتی با گروه شاهد نداشت (شکل ۱). متوسط زمان

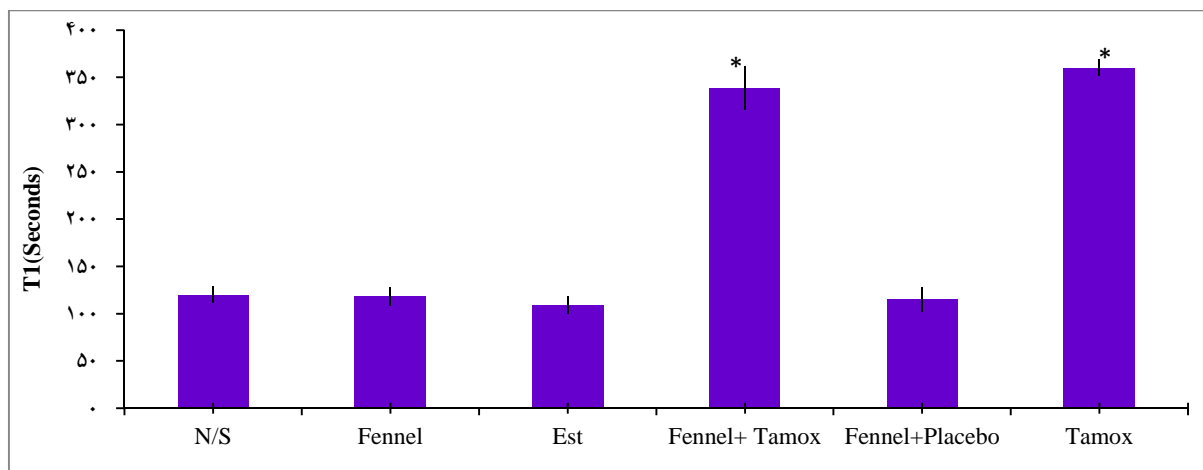
یادگیری در موش‌های دریافت کننده تاموکسیفن برابر با $9/2 \pm 360/0$ ثانیه بود که در مقایسه با گروه شاهد، تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). موش‌های دریافت کننده رازیانه + تاموکسیفن نیز مدت زمان بیش‌تری جهت یادگیری نیاز داشتند.

نتایج حاصل از تست حافظه نشان داد که متوسط RI در موش‌های دریافت کننده رازیانه یا استرادیول، در مقایسه با گروه شاهد ($5/9 \pm 5/0$ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشت (نمودار ۲). به دنبال تزریق اسکوپولامین، RI به صورت قابل توجهی کاهش یافت ($3/0 \pm 16/0$ - درصد و $P < 0/001$) که این امر، نشان‌دهنده کاهش حافظه در موش‌های دریافت کننده اسکوپولامین در مقایسه با گروه شاهد بود. متوسط RI در موش‌هایی که علاوه بر اسکوپولامین، رازیانه نیز دریافت کردند ($7/1 \pm 35/0$ درصد)، در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت؛ ولی در مقایسه با گروه اسکوپولامین، ($3/0 \pm 16/0$ - درصد) به صورت قابل توجهی افزایش یافت ($P < 0/001$). در گروهی که علاوه بر اسکوپولامین، استرادیول دریافت نمودند، RI افزایش یافت و مقادیر نزدیک به گروه شاهد حاصل شد. این در حالی است که، حافظه به صورت قابل توجهی در مقایسه با گروه اسکوپولامین افزایش داشت ($P < 0/001$) (شکل ۲).

مصرف تاموکسیفن کاهش معنی‌داری در RI ($4/6 \pm 19/0$ - درصد) در مقایسه با گروه شاهد نشان داد ($P < 0/001$) (شکل ۳). به طور مشابه، در موش‌هایی که هم‌زمان با رازیانه و اسکوپولامین، تاموکسیفن نیز دریافت نمودند، RI به طور معنی‌داری از حد طبیعی کمتر شد ($7/1 \pm 29/0$ - درصد) ($P < 0/001$). این امر، نشان‌دهنده تأثیر منفی

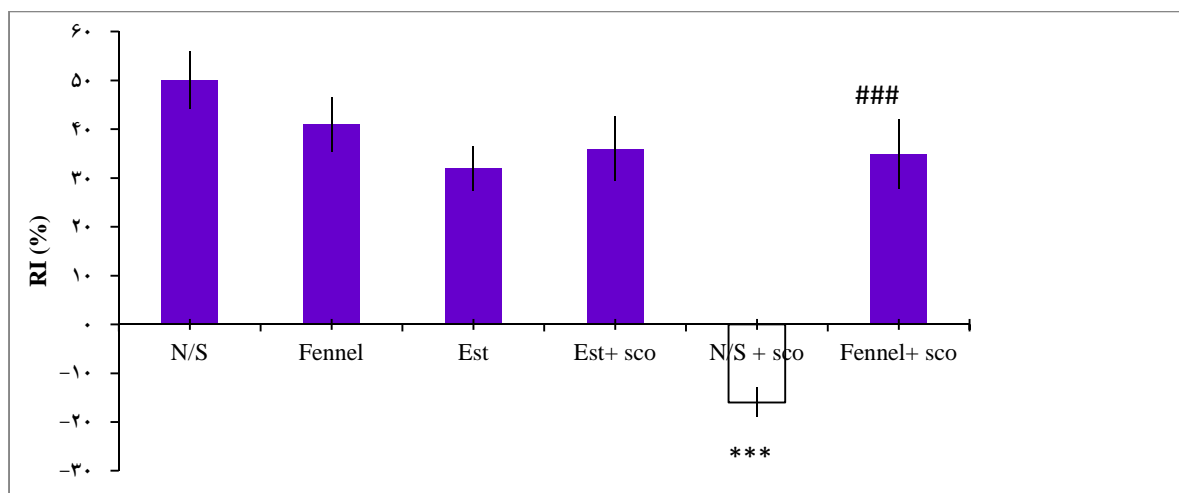
غلظت استرادیول سرم در گروه رازیانه
 $(119/0 \pm 15/0 \text{ pg/ml})$ به میزان چشم‌گیری بیشتر
 از گروه شاهد بود ($P < 0/010$).

تاموکسیفن بر حافظه‌ی حیوانات است.
 شکل شماره‌ی ۴، نتایج حاصل از اندازه‌گیری
 غلظت استرادیول سرم حیوانات را نشان می‌دهد.



شکل ۱. اثر داروهای مصرفی شامل رازیانه، استرادیول و تاموکسیفن بر مرحله‌ی یادگیری (مرحله‌ی اول آزمایش یا T1)

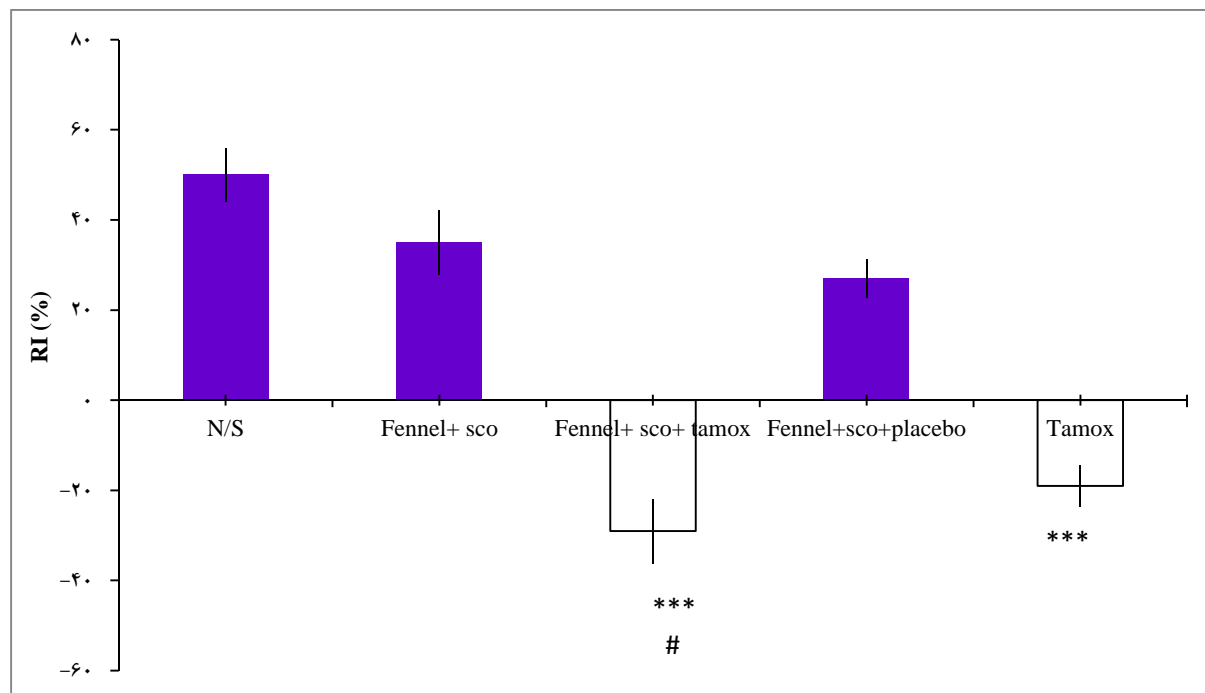
در این مرحله، حیوانات هر کدام در حضور ۲ شیء یکسان، در دستگاه قرار گرفتند و مدت زمانی که طول می‌کشید تا اشیا شناسایی شوند، ثبت می‌شد. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ عدد بود. علامت * نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میانگین یادگیری با $P < 0/050$ ، در مقایسه با گروه شاهد است؛ N/S: نرمال‌سالین، Fennel: رازیانه، Est: استرادیول، Tamox: تاموکسیفن و Placebo: دارونما



شکل ۲. تأثیر داروهای مصرفی شامل رازیانه، استرادیول و اسکوپولامین بر حافظه‌ی حیوانات از طریق شاخص تشخیص

(RI یا Recognition Index)

مرحله‌ی آزمون حافظه با T2، به فاصله‌ی ۲۰ دقیقه از مرحله‌ی اول (T1) صورت می‌گرفت؛ یکی از اشیا قدیمی (F) با یک شیء جدید (N) جایگزین می‌شد و حیوان به مدت ۵ دقیقه در دستگاه حافظه قرار گرفته، مدت زمانی که صرف شناسایی هر کدام از اشیا می‌شد، ثبت می‌گردید. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ عدد بود. علامت *** نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میانگین RI با $P < 0/001$ ، در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد. علامت #### نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میانگین RI در مقایسه با گروه نقص حافظه‌ی ناشی از اسکوپولامین با $P < 0/001$ است؛ N/S: نرمال‌سالین، Fennel: رازیانه، Est: استرادیول، Sco: اسکوپولامین.



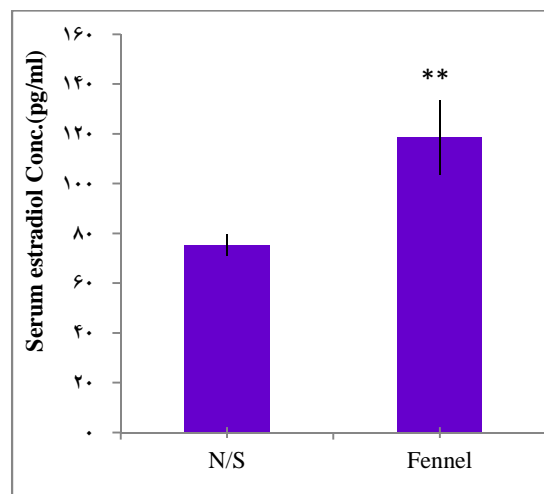
شکل ۳: تأثیر مصرف تاموکسیفن بر اندکس حافظه

در آزمون حافظه (T2) که به فاصله‌ی ۲۰ دقیقه از مرحله‌ی اول (T1) صورت می‌گرفت، یکی از اشیای قدیمی (F) با یک شیء جدید (N) جایگزین می‌شد و حیوان به مدت ۵ دقیقه در دستگاه حافظه قرار گرفته، مدت زمانی که صرف شناسایی هر کدام از اشیاء می‌شد، ثبت می‌گردید. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ عدد بود. علامت *** نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میانگین RI $P < 0/001$ ، در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد. علامت # نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میانگین RI $P < 0/050$ ، در مقایسه با گروه دارونما (رازیانه + اسکوپولامین + دارونما) است؛ N/S: نرمال‌سالین، Fennel: رازیانه، Est: استرادیول، Tamox: تاموکسیفن، Placibo: دارونما، Sco: اسکوپولامین

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که رازیانه می‌تواند مانع از ایجاد نقص حافظه‌ی ناشی از اسکوپولامین شود و این امر، هم راستا با اثر استرادیول در بهبود حافظه بود؛ در حالی که تاموکسیفن توانست اثرات مفید رازیانه بر بهبود حافظه را از بین ببرد.

روش بررسی شیء جدید، اولین بار توسط روش‌های Ennaceur و Delacour پایه‌ریزی شد و بر اساس تمایل ذاتی حیوان جهت شناخت شیء جدید است (۱۴). این روش شباهت زیادی به روش‌های بررسی حافظه در انسان دارد و نسبت به سایر روش‌های بررسی حافظه، استرس کم‌تری به حیوان وارد می‌کند؛



شکل ۴: تأثیر مصرف رازیانه بر سطح استرادیول پلاسما
علامت ** نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میانگین غلظت استرادیول سرم $P < 0/010$ ، در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد؛
N/S: نرمال‌سالین، Fennel: رازیانه

ضمن این که، روش سریعی جهت بررسی حافظه می‌باشد (۴). مطالعات نشان داده است که اسکوپولامین می‌تواند باعث نقص حافظه شود (۱۵). در مطالعه‌ی حاضر، با تزریق اسکوپولامین، شاخص تشخیص به مقادیر زیر صفر رسید که بیانگر نقص حافظه بود. از آن جایی که این یافته‌ها در راستای مطالعات قبلی است (۴)، از این طریق، درستی روش کار و مناسب بودن شرایط انجام آزمایش مورد تایید قرار می‌گیرد.

به جز در مورد حیواناتی که تاموکسیفن دریافت کردند، مدت زمان مورد نیاز جهت یادگیری حیوانات، مشابه گروه شاهد بود. در حیواناتی که تاموکسیفن را به تنهایی یا به همراه رازیانه دریافت نمودند، مدت زمان مورد نیاز برای یادگیری افزایش یافت. این امر نشان می‌دهد که تاموکسیفن می‌تواند، موجب تأخیر در یادگیری شود. هیپوکمپ، در مغز نقش مهمی در یادگیری و حافظه دارد. مطالعات گروهی از محققین بر تعیین حجم هیپوکمپ با مداخله‌ی استروژن و تاموکسیفن نشان داده است که افزایش استروژن، موجب افزایش حجم هیپوکمپ و افزایش تاموکسیفن، موجب کاهش حجم آن می‌شود (۱۸). وجود استروژن برای تکامل هیپوکمپ ضروری است. با استفاده از تاموکسیفن، به عنوان آنتاگونیست استروژن، در عملکرد استروژن اختلالی پیش می‌آید که تکامل هیپوکمپ، سیر طبیعی خود را طی نمی‌کند (۱۷). اختلال یادگیری ناشی از تاموکسیفن، در مطالعه‌ی حاضر با مطالعات قبل در یک راستا می‌باشد.

در بررسی ما، رازیانه و استرادیول هر دو مانع از اثرات مخرب اسکوپولامین بر حافظه شدند. در این

راستا، مطالعات نشان داده است که مصرف استروژن به صورت حاد یا کوتاه مدت می‌تواند به طور قابل توجهی عملکرد کولینرژیک را در Basal forebrain، از طریق افزایش برداشت کولین به داخل پایانه‌ی عصبی و آزاد شدن استیل کولین وابسته به پتاسیم، افزایش دهد (۱۹). به علاوه، نشان داده شده است که تخریب انتخابی انشعابات کولینرژیک در این قسمت از مغز، مانع از اثرات مفید استروژن بر بهبود حافظه‌ی فضایی می‌شود (۱۹). به نظر می‌رسد رازیانه، همانند استرادیول، از طریق افزایش سطح استیل کولین در مغز، مانع از اثرات آنتاگونیستی اسکوپولامین به صورت رقابتی بشود.

جهت بررسی بیشتر مکانیسم اثر رازیانه، در گروهی از حیوانات، تاموکسیفن نیز به درمان اضافه شد. اگرچه، رازیانه مانع از نقص حافظه به دنبال اسکوپولامین می‌شود، ولی این اثر به دنبال مصرف تاموکسیفن معکوس شد (RI کمتر از حد طبیعی). بنا بر این، تاموکسیفن قادر است اثرات رازیانه را در بهبود حافظه از بین ببرد. این اثر در گروهی از حیوانات که دارونما دریافت کردند، مشاهده نشد. محققان دیگر به این نتیجه رسیده‌اند که تاموکسیفن از طریق بلوک گیرنده‌های استروژنی، باعث مهار اثر ضد اضطرابی رازیانه نسبت به گروه شاهد می‌شود (۲۰). آن‌ها به این نتیجه رسیده‌اند که با غیرفعال شدن گیرنده‌های استروژنی توسط تاموکسیفن، سایر عوامل یا فاکتورهای موجود در رازیانه باعث تغییر در فعالیت حرکتی می‌شوند. به عبارت دیگر، بلوک گیرنده‌های استروژن توسط تاموکسیفن، مانع از اثر ترکیبات فیتواستروژنیک رازیانه بر گیرنده‌های استروژنیک می‌شود؛ چرا که، فیتواستروژن‌ها اثراتی

ممانعت می‌کند. بنا بر این، با وجودی که فیتواستروژن‌ها فاقد ساختمان استروئیدی می‌باشند، واضح است که می‌توانند ترکیبات مؤثری در پیش‌گیری از اختلالات شناختی و حافظه، به خصوص در خانم‌های مسن بعد از یائسگی، باشند. از این رو، مطالعاتی وسیع‌تر در زمینه‌ی اثر فیتواستروژن‌ها بر واسطه‌های شیمیایی دخیل در حافظه می‌تواند، افق‌های تازه‌ای را در زمینه‌ی حافظه و روش‌های بهبود و پیش‌گیری از اختلالات شناختی نشان دهد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق، حاصل پایان‌نامه‌ی پزشکی به شماره‌ی ۱۰۱۵ می‌باشد که پس از تصویب معاونت تحقیقات و فناوری، در دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، دانشکده‌ی پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی به انجام رسید.

بدین وسیله، از رئیس مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، آقای دکتر محمود رفیعیان، که در به ثمر رسیدن بهینه‌ی این پایان‌نامه یاری فرمودند، سپاسگزاری می‌نماییم.

شبه استروژن ایجاد می‌کنند و از طریق گیرنده‌های استروژنی بتا-ER عمل می‌کنند (۲۱). می‌توان عنوان کرد که تاموکسیفن به علت خواص آنتی‌استروژنی که دارد، مانع از اثر فیتواستروژن‌های رازیانه بر حافظه می‌گردد؛ لذا، بخشی از اثرات مفید رازیانه بر حافظه، ناشی از تأثیر آن بر گیرنده‌های استروژنی مغز می‌باشد.

سطح استرادیول سرم حیوانات دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی رازیانه به طور قابل توجهی از گروه شاهد بیشتر بود. این امر تاییدی است بر این که عصاره‌ی رازیانه، حاوی فیتواستروژن‌های فراوانی است که می‌تواند، اثرات مشابه استرادیول داشته باشد. عصاره‌ی رازیانه با افزایش سطح استرادیول اندازه‌گیری شده‌ی سرم، تأثیرات مفیدی بر حافظه اعمال کرده است.

نتیجه‌گیری

اثرات مفید رازیانه بر حافظه از طریق گیرنده‌های استروژنی صورت می‌گیرد؛ تحریک این گیرنده‌ها منجر به افزایش سطح استیل کولین در مغز می‌شود و از اثرات آنتاگونیستی اسکوپولامین به صورت رقابتی

References

- McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev* 1995; 102(3): 419-57.
- Brown ES. Effects of glucocorticoids on mood, memory, and the hippocampus. Treatment and preventive therapy. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1179: 41-55.
- Naber D, Sand P, Heigl B. Psychopathological and neuropsychological effects of 8-days' corticosteroid treatment. A prospective study. *Psychoneuroendocrinology* 1996; 21(1): 25-31.
- Mesripour A, Hajhashemi V, Rabbani M. Metyrapone and mifepristone reverse recognition memory loss induced by spontaneous morphine withdrawal in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008; 102(4): 377-81.
- Kesmati M, Namayandeh H. Effect of acute and chronically administrated estradiol benzoate on the withdrawal syndrome in morphine dependent ovariectomized mice. *Iran J Endocrinol Metab* 2006; 8(1): 91-6. [In Persian].

6. Packard MG, Kohlmaier JR, Alexander GM. Posttraining intrahippocampal estradiol injections enhance spatial memory in male rats: interaction with cholinergic systems. *Behav Neurosci* 1996; 110(3): 626-32.
7. Naghdi N, Oryan S, Etemadi R. The study of spatial memory in adult male rats with injection of testosterone enanthate and flutamide into the basolateral nucleus of the amygdala in Morris water maze. *Brain Res* 2003; 972(1-2): 1-8.
8. Joseph R, Hess S, Birecree E. Effects of hormone manipulations and exploration on sex differences in maze learning. *Behav Biol* 1978; 24(3): 364-77.
9. Balthazart J, Cornil CA, Taziaux M, Charlier TD, Baillien M, Ball GF. Rapid changes in production and behavioral action of estrogens. *Neuroscience* 2006; 138(3): 783-91.
10. Ososki AL, Kennelly EJ. Phytoestrogens: a review of the present state of research. *Phytother Res* 2003; 17(8): 845-69.
11. Cos P, de Bruyne T, Apers S, Vanden Berghe D, Pieters L, Vlietinck AJ. Phytoestrogens: recent developments. *Planta Med* 2003; 69(7): 589-99.
12. Marotti M, Dellacecca V, Piccaglia R, Giovanelli E, Palevitch D, Simon J. Agronomic and chemical of tree varieties of *Foeniculum vulgare* Mill. *Acta Horticulture*, 1993; 331: 63-9.
13. Thompson LU, Robb P, Serraino M, Cheung F. Mammalian lignan production from various foods. *Nutr Cancer* 1991; 16(1): 43-52.
14. Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav Brain Res* 1988; 31(1): 47-59.
15. Dodart JC, Mathis C, Ungerer A. Scopolamine-induced deficits in a two-trial object recognition task in mice. *Neuroreport* 1997; 8(5): 1173-8.
16. Packard MG, Teather LA. Posttraining estradiol injections enhance memory in ovariectomized rats: cholinergic blockade and synergism. *Neurobiol Learn Mem* 1997; 68(2): 172-88.
17. Nobakht M, Shafiee M, Tabatabaee P, Rastegar T. Assessment of tamoxifen effects on Nitric Oxide Synthase (NOS) in rat's developing hippocampus. *Razi j Med Sci* 2008; 15(59): 181-90. [In Persian].
18. Patrone C, Andersson S, Korhonen L, Lindholm D. Estrogen receptor-dependent regulation of sensory neuron survival in developing dorsal root ganglion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(19): 10905-10.
19. Gabor R, Nagle R, Johnson DA, Gibbs RB. Estrogen enhances potassium-stimulated acetylcholine release in the rat hippocampus. *Brain Res* 2003; 962(1-2): 244-7.
20. Pourabbas S, Kesmati M, Rasekh A. Study of the the anxiolytic effects of fennel and possible roles of both gabaergic system and estrogen receptors in these effects in adult female rat. *Physiol Pharmacol* 2011; 15(1): 134-43.

Evaluating the Effect of *Foeniculum Vulgar* on Scopolamin-Induced Memory Impairment in Male Mice

Azadeh Mesripour PharmD, PhD¹, Zahra Alibabaei², Atefeh Emadi³,
Mohammad Reza Hojjati PhD⁴

Original Article

Abstract

Background: Estrogen is a steroid that regardless of its obvious effects on females' reproductive functions shows beneficial effects on cognition. *Foeniculum vulgare* (fennel) has phytoestrogen compounds that might be beneficial in memory performance. This research was performed to understand if this plant can improve memory.

Methods: To evaluate memory, novel object recognition task was used in male Balb-c mice, which comprised of three sections: habituation, learning trial (T1) and the test trial (T2). In this method, the difference in the exploration time between a familiar (F) and a novel (N) object is taken as an index of memory performance [recognition index (RI) = $(N - F)/(N + F) \times 100$].

Findings: Memory was harmed using 0.5 mg/kg subcutaneous scopolamine [RI (%) = -16.0 ± 3.0]. 50 mg/kg intraperitoneal fennel considerably prevented memory impairment of scopolamine [RI (%) = 35.0 ± 7.1] and this was parallel with the memory index in normal animals [RI (%) = 50.0 ± 5.8]. In addition, 0.2 mg/kg intraperitoneal 17- β estradiol showed similar results as fennel on memory protection [RI (%) = 36.0 ± 6.6]. However, the beneficial effects of fennel were impaired by prior intraperitoneal injection of 1 mg/kg tamoxifen [RI (%) = -29.0 ± 7.1].

Conclusion: The beneficial effect of fennel on memory is achieved by estrogenic receptors present in the brain; by stimulating these receptors, they could cause an increase in acetylcholine release. Therefore, it can competitively prevent the antagonizing effect of scopolamine on cholinergic receptors.

Keywords: Estrogen, *Foeniculum vulgare*, Memory, Phytoestrogen

Citation: Mesripour A, Alibabaei Z, Emadi A, Hojjati MR. **Evaluating the Effect of *Foeniculum Vulgare* on Scopolamin-Induced Memory Impairment in Male Mice.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(326): 294-304

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

2- Medical Plants Research Center, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

3- Student of Medicine, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

4- Associate Professor, Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Corresponding Author: Azadeh Mesripour PharmD, PhD, Email: a_mesripour@yahoo.com

تولید لنتی ویروس اینتگراز منفی به منظور بیان گذرای پروتئین مورد نظر و کاهش اثرات جانبی ویروس در ژن درمانی

لاله شریعتی^۱، زهرا محمدی^۲، زهرا حجازی^۳، مهران مدرس^۴، دکتر منصور صالحی^۵،
دکتر محمد حسین مدرسی^۶، دکتر حسین خان احمد^۷

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: وکتورهای لنتی ویروسی ابزارهای مؤثری برای ژن درمانی می‌باشند؛ ولی ورود پرو-ویروس به ژنوم، استفاده از آن‌ها را خطرناک کرده است. بنابراین، وکتورهای لنتی ویروسی ناقص از نظر اینتگراز بی‌خطرتر را می‌توان با ایجاد موتاسیون در ژن اینتگراز تولید نمود تا به طور ویژه، از ورود پرو-ویروس به ژنوم جلوگیری نماید. در این مطالعه، یک وکتور لنتی ویروسی ناقص از نظر ژن اینتگراز نسل دوم، طراحی و ساخته شد؛ این محصول، برای هدف قرار دادن ژن به طور گذرا با وکتور ویروسی مناسب می‌باشد.

روش‌ها: با به کار بردن استراتژی جهش‌زایی هدفمند با تکنیک Overlap polymerase chain reaction، یک جهش بدمعنی (D64V) در ناحیه کاتالیتیک ژن اینتگراز در پلاسمید بسته‌بندی psPAX2 ایجاد و با تکنیک توالی‌یابی، تأیید گردید. لاین سلولی HEK293T با سه پلاسمید psPAX2 (طبیعی و ناقص از نظر اینتگراز)، pLOX (پلاسمید انتقال) و PMD2G (پلاسمید انولوپ) ترانسفکت گردید. سپس، ویروس برداشت و در لاین سلولی HEK293T منتقل گردید. میزان بیان ژن گزارشگر Green fluorescent protein (GFP)، به مدت ده روز، در سلول‌های منتقل شده با ویروس طبیعی و ناقص با میکروسکوپ فلورسنت بررسی گردید.

یافته‌ها: ما کاهش تعداد سلول‌های بیان کننده ژن GFP را با شیب ملایم در سلول‌های منتقل شده با ویروس طبیعی در طول دوره مشاهده کردیم. در مقابل، در مورد ویروس‌های ناقص، کاهش شدیدی در تعداد سلول‌های بیان کننده ژن GFP داشتیم.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، psPAX2 ناقص از نظر اینتگراز ساخته و تأیید گردید. نتایج نشان داد که وکتورهای لنتی ویروسی ناقص از نظر اینتگراز می‌تواند ابزار مفیدی برای بیان ژن به صورت گذرا و کارآمد باشد. به این ترتیب، معایب هدف قرار دادن ژن با ویروس طبیعی حذف می‌گردد.

واژگان کلیدی: بسته‌بندی لنتی ویروس، ناقص از نظر اینتگراز، بیان گذرا

ارجاع: شریعتی لاله، محمدی زهرا، حجازی زهرا، مدرس مهران، صالحی منصور، مدرسی محمد حسین، خان احمد حسین. تولید لنتی ویروس اینتگراز منفی به منظور بیان گذرای پروتئین مورد نظر و کاهش اثرات جانبی ویروس در ژن درمانی. مجله دانشکده پزشکی

اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۶): ۳۰۵-۳۱۵

۱- دانشجوی دکتری، گروه پزشکی مولکولی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی و کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- کارشناس آزمایشگاه، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشجوی دکتری، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- دانشیار، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۶- استاد، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۷- استادیار، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

مقدمه

در بین روش‌های تحویل ژن (Gene delivery) بر پایه‌ی ویروس، وکتورهای آدنوویروس کایمیریک، وکتور همراه آدنو (Adeno-associated vectors) یا AAV) و وکتورهای لنتی ویروسی وجود دارند. گرایش وکتورهای آدنوویروسی و وکتورهای همراه آدنو به سلول‌های متفاوت، محدود و وابسته به پروتئین‌های کپسید آن‌ها می‌باشد، اما در سطوح بالا قادر به تحویل ژن هستند (۱). وکتورهای لنتی ویروسی ابزارهای بسیار مناسبی برای تحویل ژن می‌باشند؛ چرا که می‌توانند طیف وسیعی از انواع سلول‌ها را بعد از یک بار تلقیح به صورت پایدار آلوده نمایند (۲). به طور مثال، همانندهای وحشی (HIV-1 و SIV) به طور اختصاصی به ژنوم هدف اینتگره می‌شوند (۳).

نگرانی‌هایی مربوط به استفاده از این وکتورها در تحویل ژن مانند ورود وکتور به ژنوم و خطر ایجاد جهش‌زایی تداخلی (Insertional mutagenesis) وجود دارد (۴). برای کمتر کردن این خطر، محققان وکتورهای لنتی ویروسی فاقد عملکرد پروتئین اینتگران (Integrase-defective lentiviral vectors) یا IDLVs) را طراحی نموده‌اند. مزیت این وکتورها آن است که ژنوم ویروس نوترکیب به صورت اپی‌زومال (خارج کروموزومی) می‌باشد، آنتی‌ژن‌های ویروسی را در این فرم بیان می‌نمایند و خطرات اینتگره شدن انواع طبیعی را ندارند (۵).

در طی آلودگی با رتروویروس‌ها، نه تنها DNA پرو-ویروسی به ژنوم میزبان اینتگره می‌گردد، بلکه تجمعی از DNA اپی‌زومال وجود دارد که از حلقوی شدن cDNA ساخته شده‌ی ژنوم ویروس اینتگره

نشده به وجود آمده است (۶).

E-DNA حلقوی به دو شکل یک LTR (Long terminal repeat) و دو LTR پشت سر هم، در سلول‌های آلوده یافت می‌گردد. نوع اول با واکنش Autointegration به وجود می‌آید و منجر به بازآرایی اشکال حلقوی با نوترکیبی هم‌ساختی (Homologous recombination) بین دو LTR می‌شود. نوع دوم از اتصال سر به دم دو LTR در cDNAهای ساخته شده‌ی ویروس به وجود می‌آید (۷). اگرچه DNA وارد شده به ژنوم میزبان مسئول تولید ذرات ویروس جدید است، اما در این میان نقش E-DNA نامعلوم می‌باشد. دانشمندان نشان داده‌اند که E-DNA به طور فعال نسخه‌برداری می‌شود و E-DNAهای حلقوی در سلول‌های غیر تقسیم شونده حضور دارند (۷). ویروس‌های ناقص اغلب برای ارزیابی فعالیت نسخه‌برداری E-DNA استفاده می‌گردد و در لنتی ویروس‌های دارای نقص در آنزیم اینتگران، وارد ژنوم میزبان نمی‌شوند و E-DNA در سلول‌های غیر تقسیم شونده تجمع می‌یابد (۸).

استفاده از لنتی ویروس‌های دارای نقص در آنزیم اینتگران، محدودیت‌هایی دارد. این گونه‌ها به مدت طولانی در سلول‌های غیر قابل تقسیم مانند نورون‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های ماهیچه زنده می‌مانند، اما در سلول‌های در حال تقسیم همچون سلول‌های T، دارای نیمه عمر کوتاهی هستند و علت آن نداشتن منشأ همانندسازی در E-DNA می‌باشد که همین عامل از حفظ آن در سلول‌های در حال تقسیم جلوگیری می‌نماید. از ماهیت گذرا اما بیانی E-DNA در ژن درمانی بهره‌برداری شده است. تعییرات ژنومی هدف‌دار در سلول‌های منتقل شده با لنتی ویروس‌های

روش‌ها

سه پلاسمید PSpax2 (پلاسمید بسته‌بندی) (شکل ۱)، PMD2G (پلاسمید انولوپ) و PLOX (پلاسمید ترانسفر حاوی ژن GFP) تهیه گردید. در پلاسمید PSpax2 در ناحیه‌ی ۳۹۶۹، جایگاه برش آنزیم محدود کننده‌ی EcoR V و در ناحیه‌ی ۵۷۰۰ جایگاه برش آنزیم محدود کننده‌ی Afl II وجود دارد و کدون ۶۴ بین این دو ناحیه قرار گرفته است. چهار پرایمر یکی در ناحیه‌ی ۳۹۶۹ (F1)، یکی در ناحیه‌ی ۵۷۰۰ (R₂) و دو تا در محدوده‌ی کدون ۶۴ [یکی Reverse (R1_{int}) و یکی Forward (F2_{int})] که هر دو در کدون ۶۴ موتاسیون دارد] طراحی شد. دو پرایمر وسط با هم هم‌پوشانی داشت (جدول ۱).

PCR اول با پرایمر F1 و R1_{int} و PCR دوم با پرایمر F2_{int} و R2 انجام شد. طول قطعه در PCR اول برابر ۱۴۰۰ و در دومی ۴۰۰ جفت باز بود. هر دو PCR با آنزیم Taq DNA polymerase (*Thermus aquaticus*) بهینه‌سازی شد و با آنزیم Pfu DNA polymerase (*Pyrococcus furiosus*) انجام گردید. محصول هر دو PCR روی ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد. عمل تصفیه با کیت فرمتاز مطابق دستورالعمل روی هر دو محصول انجام و دوباره محصول کار روی ژل آگارز بررسی و برای انجام Overlap PCR آماده گردید.

با محصول PCR اول و دوم، یک Overlap PCR با پرایمر F1 و R2 و سیکل دمایی ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد دو دقیقه، پنج سیکل ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه و ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد ۵ دقیقه، سی سیکل ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی

ناقص مشاهده می‌شود (۱). گونه‌های اپی‌زومال وکتور را می‌توان جهت بیان مؤثر ژن مورد نظر در بیشتر وکتور لنتی ویروس ناقص از نظر اینتگران تحت کنترل درآورد.

سیستم‌های بسته‌بندی لنتی ویروسی در سه نسل طبقه‌بندی شده‌اند. در نسل اول وکتورهای بسته‌بندی لنتی ویروس‌های مهندسی شده دو عدد می‌باشد. پروتئین‌های مرکزی، آنزیم‌ها و فاکتورهای جانبی روی یک پلاسمید و ژن انولوپ از ویروس استوماتیتیس وزیکولار (Vesicular stomatitis virus G یا VSV-G) روی پلاسمید دیگری قرار دارد (۹). در نسل دوم که هنوز در بیشتر موارد استفاده می‌گردد، با کاهش تعداد اجزای ویروس HIV-1 (Human immunodeficiency virus) به gag، rev، pol و tat، احتمال ایجاد خطر زیستی بهبود می‌یابد (۹-۱۰).

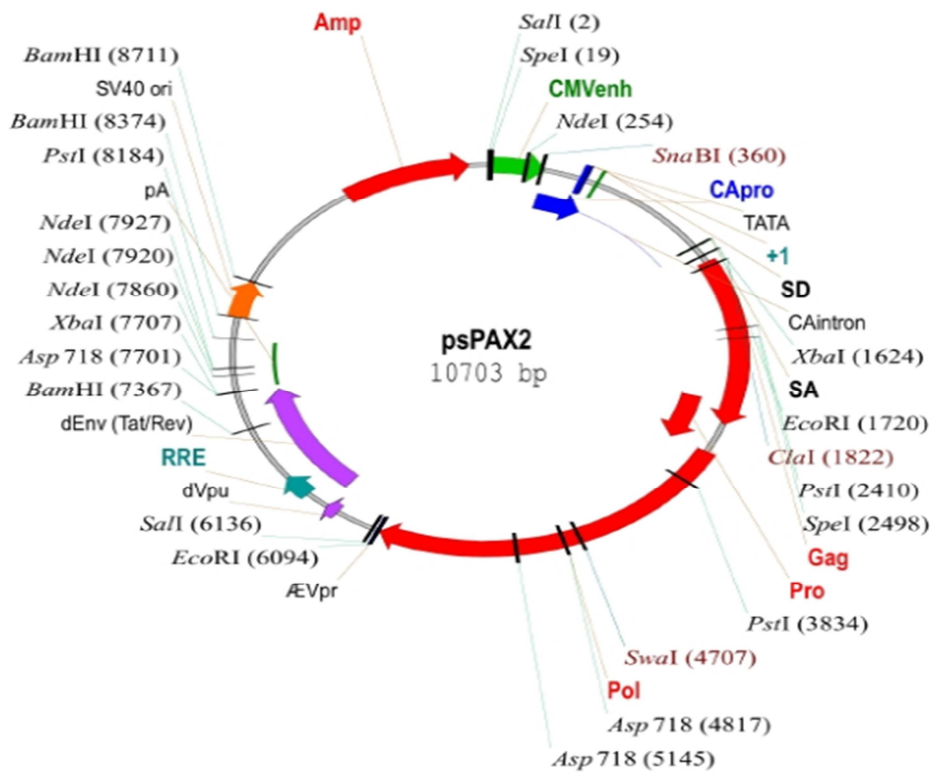
در نسل دوم وکتورهای بسته‌بندی لنتی ویروس‌های مهندسی شده سه عدد می‌باشد. ژن مورد نظر مطالعه‌ی حاضر در پلاسمید ترانسفر، gag، pol و rev در پلاسمید بسته‌بندی و ژن انولوپ از ویروس استوماتیتیس وزیکولار در پلاسمید انولوپ قرار دارد. نگرانی خطر زیستی مربوط به تولید ویروسی است که به طور بالقوه همانندسازی نماید (RCL یا Replication competent virus). نسل سوم، چهار وکتوری (پلاسمید ترانسفر، دو پلاسمید بسته‌بندی و پلاسمید انولوپ) می‌باشد (۱۱).

هدف از انجام تحقیق حاضر، ساخت یک لنتی ویروس ناقص از نظر اینتگران از نوع طبیعی با سیستم بسته‌بندی نسل دوم بود که با کارایی بالا وارد سلول می‌گردد، اما در ژنوم ادغام نمی‌شود.

دمای اتاق و تمام مدت شب در یخچال گذاشته شد؛ سپس، در باکتری *E. coli* Top10 (Escherichia coli) مستعد شده با روش کلسیم کلراید، ترانسفورم گردید. آن گاه، باکتری‌ها روی محیط LB (Lysogeny broth) آگار حاوی ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آمپی‌سیلین کشت داده شدند و پس از آن، Colony PCR با پرایمرهای عمومی M13 انجام گرفت. کلون‌هایی که قطعه‌ی ۱۸۰۰ جفت بازی مورد نظر را داشتند، روی محیط LB قرار داده شدند و پلاسمید از آن‌ها استخراج گردید.

سانتی‌گراد ۴ دقیقه و ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام گردید. محصول مورد نظر از روی ژل استخراج و PCR مورد نظر جهت اضافه شدن نوکلئوتید A با dATP و آنزیم Taq DNA polymerase انکوبه شد (Taq treatment).

کلون کردن قطعه‌ی مورد نظر در وکتور TA/cloning: واکنش اتصال بین قطعه‌ی حاصل از Overlap PCR (که Taq treatment شده و از روی ژل استخراج شده بود) و وکتور تجاری TA/cloning انجام گرفت و محصول اتصال به مدت یک ساعت در



شکل ۱. نقشه‌ی پلاسمید psPAX2

جدول ۱. ترادف پرایمرهای مورد استفاده در ساخت psPAX2 ناقص از نظر اینترگراز

پرایمر	ترادف پرایمر
F1	5'ACACCAGGGATTAGATATCATTAA3'
R1 _{int}	5'TTCTAAATGTGTACATACTAGCTGC3'
F2 _{int}	5'AGCTAGTATGTACACATTTAGAAGG3'
R2	5'TTGTACTIONGCTGTCTTAAGATGTTC3'

فلورسنت مورد بررسی قرار گرفت. ۴۸ ساعت بعد از ترانسفکت، سوپ روی سلول‌ها برداشته شد و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ و در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. برداشت سوپ روی سلول‌ها طی سه مرحله به فاصله‌ی ۲۴ ساعت انجام گرفت.

تعیین تیترو ویروس: تعداد $10^5 \times 1/5$ سلول HEK293T در پلیت ۱۲ خانه‌ای کشت داده شد. رقت‌های 10^{-2} ، 10^{-3} ، 10^{-4} ، 10^{-5} و 10^{-6} از لنتی ویروس طبیعی و جهش یافته تهیه و هر کدام در یک خانه اضافه گردید. سپس، سلول‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک هفته نگهداری و درصد سلول‌های سبز با روش فلوسایتمتری در هر خانه تعیین شد. تیترو ویروس طبق پروتکل استاندارد (۱۲) تعیین گردید.

انتقال سلول‌های HEK293T با لنتی ویروس طبیعی و جهش یافته: تعداد $10^5 \times 1/5$ سلول HEK293T در پلیت ۱۲ خانه‌ای کشت داده شد. از ویروس طبیعی به یک خانه و از ویروس جهش یافته به خانه‌ی دیگری با (Multiplicity of infection) MOI برابر با ۵ اضافه گردید. سپس سلول‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند و تا دو هفته تحت نظر بودند و از نظر تعداد سلول‌های بیان کننده‌ی GFP و شدت بیان، با میکروسکوپ فلورسنت مورد بررسی قرار گرفتند

یافته‌ها

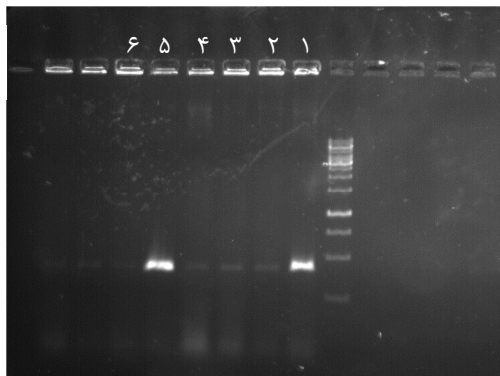
قطعات ۴۰۰ تایی و ۱۴۰۰ تایی با انجام دو PCR با پرایمرهای R2، F2_{int} و R1_{int}، F1 حاصل شد

پلاسمید استخراج شده با دو آنزیم Afl II و EcoR V تحت عمل هضم قرار گرفت و روی ژل گذاشته شد. قطعه‌ی ۱۸۰۰ جفت بازی از ژل استخراج و جهت تأیید ایجاد جهش در موقعیت D64، با پرایمر R2 تعیین توالی گردید.

پلاسمید PSpax2 با دو آنزیم Afl II و EcoR V هضم شد و روی ژل ۱ درصد قرار گرفت. یک قطعه مربوط به ۱۸۰۰ جفت بازی و دیگری مربوط به پلاسمید می‌باشد که قطعه‌ی مربوط به پلاسمید استخراج گردید. عمل Ligation بین دو قطعه‌ی ۱۸۰۰ دارای جهش در موقعیت D64 و پلاسمید صورت گرفت. محصول واکنش اتصال، در باکتری E. coli Top10 مستعد شده با کلسیم کلراید ترانسفورم گردید. باکتری‌ها روی محیط LB آگار حاوی ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آمپی‌سیلین کشت داده شد و عمل Colony PCR روی کلونی‌های حاصل با پرایمرهای عمومی انجام گردید.

تولید لنتی ویروس طبیعی و فاقد فعالیت ایتگراز در رده‌ی سلولی HEK293T: دو مجموعه پلاسمید بسته‌بندی شامل PSpax2 طبیعی و جهش یافته، PMD2G و پلاسمید ترانسفر بیان کننده‌ی ژن GFP (Plox) توسط پالسی‌فکتامین ۲۰۰۰ (Invitrogen USA) به داخل سلول‌های رده‌ی HEK293T ترانسفکت شد (تعداد سلول و جزئیات طبق دستورالعمل کیت) (یک روز قبل از ترانسفکت سلول‌ها کشت داده شد). ابتدا کمپلکس DNA-Polyfect طبق پروتکل شرکت، آماده و محیط کشت سلول‌ها تعویض شد. این کمپلکس به سلول‌ها اضافه و محیط کشت بعد از ۱۴ ساعت تعویض گردید. سپس، سلول‌ها توسط میکروسکوپ

پلاسمید PSpax2 integrase minus ساخته شد. این پلاسمید داخل باکتری تغییر یافت و پلاسمید استخراج گردید.



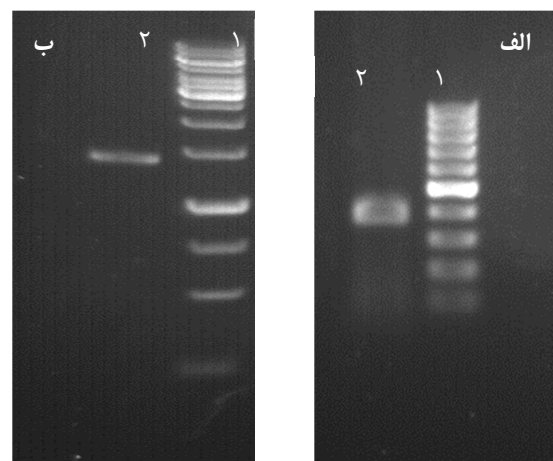
شکل ۳. ستون ۱ نشانگر وزن مولکولی DNA ۱۰۰۰ جفت بازی و ستون ۲ و ۶، قطعه‌ی ۱۸۰۰ جفت بازی

تولید لنتی ویروس: قطعات لنتی ویروس در داخل سلول روی هم سوار شده، ویروس طبیعی و ناقص از نظر ژن اینتگران تولید می‌شود. میزان ترانسفکت از روی درصد سبز شدن سلول‌ها سنجیده می‌شود. حدود ۸۰ درصد سلول‌ها ترانسفکت شده بودند (شکل ۴).

تعیین تیترو ویروس: تیترو ویروس طبیعی $10^5 \times 2/1$ و تیترو ویروس ناقص $10^5 \times 1$ به دست آمد.

بررسی عملکرد لنتی ویروس ناقص از نظر ژن اینتگران: در روزهای اول حدود ۶۰-۷۰ درصد سلول‌ها در هر دو خانه سبز بودند، اما درصد سلول‌های سبز در خانه‌ی مربوط به ویروس‌های ناقص از روز ششم کمتر شد و این روند ادامه داشت؛ به گونه‌ای که در روز دهم تعداد کمی از سلول‌ها سبز مانده بودند. این در حالی است که در خانه‌ی مربوط به ویروس طبیعی، حدود ۵۰ درصد سلول‌ها سبز بودند (شکل ۵).

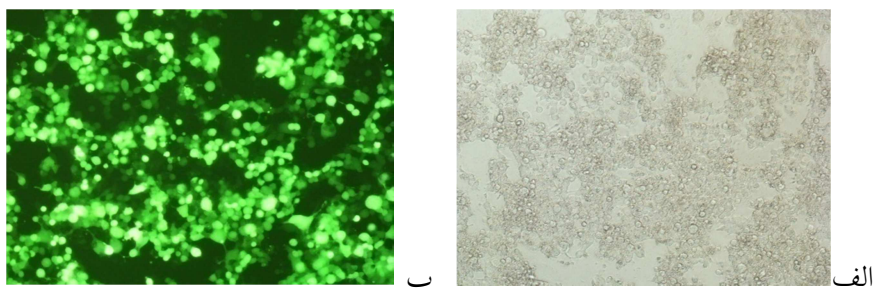
(شکل ۲). سپس، از این قطعات به عنوان الگو در Overlap PCR استفاده گردید. محصول روی ژل ۱ درصد قرار داده شد. قطعه‌ی ۱۸۰۰ نوکلئوتیدی از روی ژل استخراج و دوباره عمل PCR با پرایمر F1 و R2 روی آن انجام گردید. باز هم قطعه‌ی ۱۸۰۰ وجود داشت.



شکل ۲. الف، ستون ۱ نشانگر وزن مولکولی DNA ۱۰۰ جفت بازی و ستون ۲، قطعه‌ی ۴۰۰ جفت بازی (الف)، ستون ۱ نشانگر وزن مولکولی DNA ۱۰۰۰ جفت بازی و ستون ۲، قطعه‌ی ۱۴۰۰ جفت بازی (ب)

قطعه‌ی ۱۸۰۰ بعد از ساب کلون در وکتور PTZ57 و تغییر در باکتری E.coli Top10، در LB آگار کشت داده شد و عمل PCR روی آن انجام گردید. کلون‌هایی که قطعه‌ی ۱۸۰۰ داشتند، انتخاب شدند (شکل ۳). بعد از هضم آنزیمی پلاسمید، قطعه‌ی ۱۸۰۰ از ژل استخراج گردید و تعیین ترادف شد. موتاسیون در کدون ۶۴ (D64V) تأیید گردید.

پلاسمید PSpax2 هضم آنزیمی شد و قطعه‌ی ۱۸۰۰ بیرون انداخته شد و خطی گردید و عمل Ligation بین دو قطعه‌ی ۱۸۰۰ موتانت یافته و پلاسمید خطی شده صورت گرفت؛ بدین صورت،



شکل ۴. لاین سلولی HEK293T در نور مرئی (الف) و لاین سلولی HEK293T در نور UV (ب) (Ultraviolet) با طول موج ۴۹۸ نانومتر (ب)

بحث

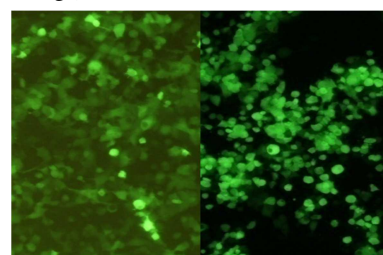
ژن درمانی بر اساس نوع سیستم تحویل ژن به دو روش ویروسی و غیر ویروسی انجام می‌گیرد (۱۳). روش‌های غیر ویروسی با وجود ظرفیت بالا برای انتقال ژن به درون سلول، نداشتن خطر سمیت و تحریک سیستم ایمنی، در مقایسه با وکتورهای ویروسی از کارایی کمتری برخوردار هستند (۱۴).

در حال حاضر، ۷۰ درصد پروتکل‌های ژن درمانی با استفاده از وکتورهای ویروسی انجام می‌شود (۱۵). بنابراین، با جایگزین کردن ژن‌های غیر ضروری ویروس با ژن درمانی هدف، وکتورهای ویروسی طراحی می‌شود و می‌تواند با به کار گیری مکانیسم طبیعی خود، ژن مورد نظر را به سلول هدف انتقال دهند. شایع‌ترین وکتورهای ویروسی مورد استفاده در ژن درمانی شامل آدنوویروس‌ها، رتروویروس‌ها، واکسینیا ویروس‌ها، پاکس ویروس‌ها، ویروس هرپس سیمپلکس، Adeno-associated virus و لنتی ویروس‌ها می‌باشد (۱۶). در این میان، لنتی وکتورها به دلیل توانایی آلوده کردن سلول‌های تقسیم شونده و به ویژه، غیر تقسیم شونده و همچنین، با درج ژن مورد نظر به درون ژنوم سلول هدف، امکان بیان طولانی مدت آن را فراهم می‌کنند (۱۷).

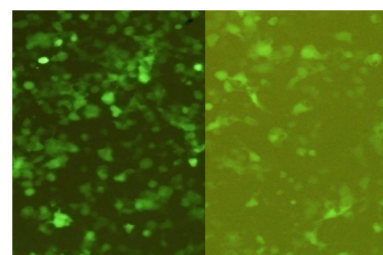
اینتگران (-) اینتگران (+)



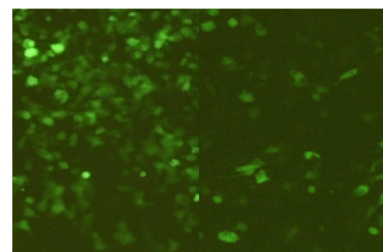
سلول‌های HEK293T در نور مرئی



۵ روز بعد از انتقال



۸ روز بعد از انتقال



۱۰ روز بعد از انتقال

شکل ۵. میزان نور فلورسانس در سلول‌های HEK293T منتقل شده با ویروس‌های طبیعی و ناقص از نظر اینتگران

تغییر هر کدام از این اسیدهای آمینه منجر به نقص عملکرد پروتئین اینتگران می‌گردد (۲۰).

این وکتورها به شکل اپی‌زومال باقی می‌مانند و تعدادشان طی تقسیمات سلولی در سلول‌های تقسیم شونده کاهش می‌یابد و کم‌کم از بین می‌رود؛ هرچند، در سلول‌های خاموش به صورت پایدارتری باقی می‌مانند. بنابراین، IDLVs می‌توانند سبب بیان موقت در سلول‌های در حال تکثیر و بیان پایدار در سلول‌های غیر تقسیم شونده در محیط طبیعی و شرایط آزمایشگاهی شوند. در مقایسه با لنتی وکتورهای درج شونده، IDLVs خطر جهش‌زایی کمتر، احتمال نوترکیبی بین اجزا و تولید ذره‌ی ویروسی کامل کمتر و در مجموع ایمنی زیستی (Biosafety) بیشتری دارند. در عین حال در گزارش‌های اولیه، به سطح بیان کمتری از ژن هدف اشاره شده است؛ چرا که اپی‌زوم‌ها به اندازه وکتورهای پرو-ویروسی کروموزومی، مؤثر و کارآمد نمی‌باشند (۲۱، ۱۷). در مطالعه‌ی حاضر، کاهش تعداد سلول‌های بیان‌کننده‌ی ژن GFP نشان داد که ژن اینتگران در ویروس‌های ناقص، عمل نکرده و ورود DNA ویروسی به ژنوم میزبان مختل شده است. در مطالعه‌ی دیگر، در ژن اینتگران در لنتی ویروس‌های نسل سوم جهش ایجاد کردند (۲۲) که نتایجی مشابه با نتایج مطالعه‌ی حاضر داشت.

IDLVs علاوه بر بیان موقت، می‌توانند در صورت داشتن سیستم همانندسازی خارج کروموزومی مانند منشأ همانندسازی SV40 و آنتی‌ژن بزرگ T، برای مدت زمان طولانی بیان داشته باشند. در پژوهش Yu و همکاران با به کار گرفتن منشأ همانندسازی SV40، بیان ماندگار ژن را در سلول‌های

ذرات رتروویروسی، حاوی ۲ کپی یکسان از RNA تک رشته‌ی مثبت با طولی در حدود ۱۰-۷ کیلوباز می‌باشند. همچنین، آنزیم‌هایی مانند اینتگران (Integrase) و رونوشت‌بردار معکوس (Reverse transcriptase) دارند که در یک پوشش پروتئینی به نام کپسید واقع شده‌اند. کپسید توسط یک غشای دو لایه‌ی لیپیدی احاطه می‌شود. پروتئین‌های پوششی (Envelope) نیز به شکل زوایید گلیکوپروتئینی از آن خارج می‌شوند و نقش مهمی در تعیین اختصاصیت رتروویروس‌ها داشته، مسئول اتصال و ادغام شدن به غشای سلول میزبان می‌باشند. RNA رتروویروس توسط آنزیم RT به DNA برگردانده می‌شود. سپس DNA دو رشته‌ای ویروس از طریق آنزیم اینتگران وارد هسته‌ی سلول آلوده شده، در ژنوم آن ادغام می‌گردد. در نتیجه، DNA پرو-ویروسی به سلول‌های نسل بعد نیز منتقل می‌شود (۱).

هرچند در گذشته توانمندی درج شدن در ژنوم سلول، بسیار قابل توجه بوده، اما نتایج مطالعات اخیر این موضوع را به چالش کشیده است (۱۷). برخی از مطالعات موفق شدند که با استفاده از حایل (Insulator)، اثرات مکانی را که در اثر وارد شدن ژن ویروسی به ژن‌های اطراف و برعکس وارد می‌گردد، کاهش دهند (۱۸-۱۹). به همین دلیل، پژوهش‌ها به سمت تولید لنتی وکتورهای ناقص در درج شدن، پیشرفت نمود و از طریق ایجاد موتاسیون در ژن درج‌کننده (Integrase)، لنتی وکتورهای بدون توانایی درج شدن (IDLV) تولید شدند. پروتئین اینتگران دارای یک هسته‌ی اصلی با سه اسید آمینه‌ی ضروری (E152، D116 و D64) برای فعالیت کاتالیتیک می‌باشد. مطالعات نشان داده است که

تشکر و قدردانی

بخشی از منابع مالی این طرح پژوهشی از دانشگاه علوم پزشکی تهران و بخشی از صندوق حمایت از پژوهشگران ریاست جمهوری تأمین گردیده است. از همکاری صمیمانه‌ی کارکنان محترم بخش ژنتیک و بیولوژی مولکولی و آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

HEK293T حاوی آنتی‌ژن بزرگ T ویروس SV40 مشاهده کردند (۲۳).

نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که حامل‌های نسل دوم با نقص در آنزیم اینتگران، حامل‌های مناسبی جهت استفاده در ژن درمانی می‌باشند؛ چرا که، این وکتورها بسیار ضعیف در ژنوم وارد می‌شوند و خطر جهش‌زایی تداخلی به طور کامل حذف می‌گردد.

References

- Joglekar AV, Hollis RP, Kuflinec G, Senadheera S, Chan R, Kohn DB. Integrase-defective lentiviral vectors as a delivery platform for targeted modification of adenosine deaminase locus. *Mol Ther* 2013; 21(9): 1705-17.
- Wiznerowicz M, Trono D. Harnessing HIV for therapy, basic research and biotechnology. *Trends Biotechnol* 2005; 23(1): 42-7.
- Hematti P, Hong BK, Ferguson C, Adler R, Hanawa H, Sellers S, et al. Distinct genomic integration of MLV and SIV vectors in primate hematopoietic stem and progenitor cells. *PLoS Biol* 2004; 2(12): e423.
- Hacein-Bey-Abina S, von KC, Schmidt M, Le DF, Wulfraat N, McIntyre E, et al. A serious adverse event after successful gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 2003; 348(3): 255-6.
- Vargas J, Gusella GL, Najfeld V, Klotman ME, Cara A. Novel integrase-defective lentiviral episomal vectors for gene transfer. *Hum Gene Ther* 2004; 15(4): 361-72.
- Cara A, Reitz MS. New insight on the role of extrachromosomal retroviral DNA. *Leukemia* 1997; 11(9): 1395-9.
- Michelini Z, Negri D, Cara A. Integrase defective, nonintegrating lentiviral vectors. *Methods Mol Biol* 2010; 614: 101-10.
- Saenz DT, Loewen N, Peretz M, Whitwam T, Barraza R, Howell KG, et al. Unintegrated lentivirus DNA persistence and accessibility to expression in nondividing cells: analysis with class I integrase mutants. *J Virol* 2004; 78(6): 2906-20.
- Naldini L, Blomer U, Gallay P, Ory D, Mulligan R, Gage FH, et al. In vivo gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. *Science* 1996; 272(5259): 263-7.
- Pacchia AL, Adelson ME, Kaul M, Ron Y, Dougherty JP. An inducible packaging cell system for safe, efficient lentiviral vector production in the absence of HIV-1 accessory proteins. *Virology* 2001; 282(1): 77-86.
- Zufferey R, Nagy D, Mandel RJ, Naldini L, Trono D. Multiply attenuated lentiviral vector achieves efficient gene delivery in vivo. *Nat Biotechnol* 1997; 15(9): 871-5.
- Tiscornia G, Singer O, Verma IM. Production and purification of lentiviral vectors. *Nat Protoc* 2006; 1(1): 241-5.
- McTaggart S, Al-Rubeai M. Retroviral vectors for human gene delivery. *Biotechnol Adv* 2002; 20(1): 1-31.
- Pluta K, Kacprzak MM. Use of HIV as a gene transfer vector. *Acta Biochim Pol* 2009; 56(4): 531-95.
- Morris KV, Rossi JJ. Lentiviral-mediated delivery of siRNAs for antiviral therapy. *Gene Ther* 2006; 13(6): 553-8.
- Duarte S, Carle G, Faneca H, de Lima MC, Pierrefite-Carle V. Suicide gene therapy in cancer: where do we stand now? *Cancer Lett* 2012; 324(2): 160-70.
- Wanisch K, Yanez-Munoz RJ. Integration-deficient lentiviral vectors: a slow coming of age. *Mol Ther* 2009; 17(8): 1316-32.
- Rivella S, Callegari JA, May C, Tan CW, Sadelain M. The cHS4 insulator increases the probability of retroviral expression at random chromosomal integration sites. *J Virol* 2000; 74(10): 4679-87.
- Farrell CM, West AG, Felsenfeld G. Conserved CTCF insulator elements flank the mouse and human beta-globin loci. *Mol Cell Biol* 2002;

- 22(11): 3820-31.
20. Gaur M, Leavitt AD. Mutations in the human immunodeficiency virus type 1 integrase D,D(35)E motif do not eliminate provirus formation. *J Virol* 1998; 72(6): 4678-85.
21. Banasik MB, McCray PB. Integrase-defective lentiviral vectors: progress and applications. *Gene Ther* 2010; 17(2): 150-7.
22. Farazmandfar T, Khanahmad SH, Haghshenas MR, Janbabai G, Azadeh H, Mansour SN. Use of integrase-minus lentiviral vector for transient expression. *Cell J* 2012; 14(2): 76-81.
23. Yu SS, Dan K, Chono H, Chatani E, Mineno J, Kato I. Transient gene expression mediated by integrase-defective retroviral vectors. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 368(4): 942-7.

Producing Integrase Minus Lentivirus for Transient Expression of the Desired Protein and Reduced Side Effects of the Virus in Gene Therapy

Laleh Shariati MSc¹, Zahra Mohammadi², Zahra Hejazi³, Mehran Modarres MSc⁴, Mansour Salehi PhD⁵, Mohammad Hosein Modarresi PhD⁶, Hosein Khanahmad PhD⁷

Original Article

Abstract

Background: Lentiviral vectors are very efficient tools for gene therapy. But, proviral integration make their use dangerous; therefore, the safer integration deficient lentiviral vectors (IDLVs) can be produced through the use of integrase gene mutations that specifically prevent proviral integration. This study was launched to design and construct a second generation integration deficient lentiviral vector suitable for transient gene targeting with viral vector.

Methods: Applying the site directed mutagenesis strategy through the overlap polymerase chain reaction technique, a missense mutation (D64V) was induced in the catalytic domain of the integrase gene in the psPAX2 (packaging) plasmid and was verified using DNA sequencing. The HEK293T cell line was transfected using the psPAX2 plasmid (native and integrase minus), pLOX (transfer plasmid) and PMD2G (envelope plasmid). The viruses were harvested and the HEK293T cell line was transduced. The levels of expression of the green fluorescent protein (GFP) reporter gene were monitored in the cells transduced with either native or defective virus for ten days.

Findings: We observed a slight slope of decrease in the number of GFP-positive cells transduced with native viruses during the period. In contrast, in the case of defective viruses, a significant decrease in the number of GFP positive cells was noted.

Conclusion: In this study, the integrase-minus psPAX2 was constructed and confirmed. The results demonstrate that the IDLV can provide a useful tool for efficient transient gene expression and can help to avoid disadvantages of gene targeting using the native virus.

Keywords: Lentivirus packaging, Integrase-minus, Transient expression

Citation: Shariati L, Mohammadi Z, Hejazi Z, Modarres M, Salehi M, Modarresi MH, et al. **Producing Integrase Minus Lentivirus for Transient Expression of the Desired Protein and Reduced Side Effects of the Virus in Gene Therapy.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(326): 305-15

1- PhD Student, Department of Molecular Medicine, School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- MSc Student, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

4- PhD Student, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

6- Professor, Department of Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

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

Corresponding Author: Hosein Khanahmad PhD, Email: hossein_khanahmad@yahoo.com

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

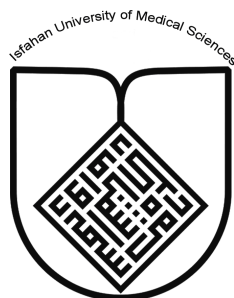
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

INSTRUCTION TO AUTHORS

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

Editorial Board (In alphabetical order)

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



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 33, No. 326, 2nd Week, May 2015

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:

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

Telefax: +98 31 37922291

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

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

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

Telefax: +98 31 36686302

E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

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.