

مقاله های پژوهشی

- ارزیابی جامع بیواتفورماتیکی بیان ترشحی هورمون رشد انسانی با توالی های راهنمای مناسب در *Escherichia Coli*: مطالعه‌ی *In Silico* ۸۹۰
عارف دوزنده جویباری، حمید رضا وزیری، شاهرخ قوتی، محمد مهدی سوهانی
- ارزیابی میزان خطای محاسبات دز سیستم طراحی درمان در ریه هنگام درمان با الکترون به روش *(3D-CRT) Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy* ۹۰۰
محمدباقر توکلی، حسین طاهری، علی اخوان
- فراوانی تداخلات دارویی در بیماران بخش های مراقبت های ویژه بیمارستان الزهراء (س) اصفهان ۹۰۵
پرویز کاشفی، سارا موسوی، علی حسینی
- کاهش میزان بیان گیرنده ی فعال کننده ی تکثیر پروکسی زوم گاما (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma*) یا *(PPARγ)* در سرطان معده و ارتباط آن با پیشرفت تومور ۹۱۱
غلام بساطی، حدیثه محمدپور، امیرنادر امامی رضوی

مقاله کوتاه

- بررسی اثر مصرف آب قره قاط غنی سازی شده با امگا ۳ و مصرف جداگانه ی هر کدام به همراه درمان های غیر جراحی پریدونتال بر کنترل گلابسمیک و پروفایل لیپیدی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ دچار بیماری پریدونتال ۹۱۹
احمد زارع جاوید، الناز اشرف زاده، حسین بابایی، حجت اله یوسفی منش، مهرنوش ذاکر کیش، کامبیز احمدی انگالی، غلامرضا عسگری

Original Articles

- A Comprehensive Bioinformatic Assessment of Different Signal Peptides for Secretory Expression of Human Growth Hormone in *Escherichia Coli*: An *In Silico* Study 899
Aref Doozandeh-Juibari, Hamid Reza Vaziri, Shahrokh Ghovvati, Mohammad Mahdi Sohani
- Evaluation of Calculation Errors of Treatment Planning System in Dose Distribution of Electron Beams inside the Lung in Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy (3D-CRT) 904
Mohammad Bagher Tavakoli, Hossein Taheri, Ali Akhavan
- The Frequency of Drug Interactions in Patients in the Intensive Care Units of Alzahra Hospital, Isfahan, Iran ... 910
Parviz Kashefi, Sara Mousavi, Ali Hosseini
- Low Expression Levels of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (*PPARγ*) in Gastric Cancer and its Relationship with Tumor Progression 918
Gholam Basati, Hadiseh Mohammadpour, Amirnader Emami-Razavi

Short Communication

- Impact of Cranberry Juice Enriched With Omega-3 and Their Individual Consumption Adjunct with Nonsurgical Periodontal Treatment on Glycemic Control and Lipid Profile in Patients with Diabetes Mellitus and Periodontal Disease 926
Ahmad Zare-Javid, Elnaz Ashrafzadeh, Hosein Babaei, Hojatallah Yousefimanesh, Mehrnoosh Zakerkish, Kambiz Ahmadi-Angali, Gholamreza Asgari



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و پنجم، شماره (۴۴۰)، هفته چهارم شهریورماه ۱۳۹۶

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر مریم راد احمدی

ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

Email: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مدیر اجرایی: علی مرادی مسؤول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱ تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

Email: jims@med.mui.ac.ir

وب سایت مجله: http://jims.mui.ac.ir

امور نشر:

(ویراستاری، صفحه‌آرایی، بازبینی، طراحی، چاپ و

پشتیبانی آنلاین)

انتشارات فرزاتگان راداندیش

Email: farapublications@gmail.com

http://farapub.com

تلفن: ۰۳۱-۳۲۲۴۳۳۵

دورنگار: ۰۳۱-۳۲۲۴۳۸۲

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

مرتبه علمی	نام و نام خانوادگی
دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۱- دکتر محمد رضا اخلاقی
استادیار، متخصص رادیوتراپی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۲- دکتر علی اخوان
استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۳- دکتر ابراهیم اسفندیاری
استاد، فوق تخصص غدد، دانشکده‌ی پزشکی، کالیفرنیا، آمریکا	۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی
استاد، دکترای تخصصی تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران	۵- دکتر احمد اسماعیل زاده
دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۶- دکتر افسون امامی
گروه بیوشیمی، بیمارستان سن آنتونیو، پاریس، فرانسه	۷- دکتر شاهین امامی
استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۸- دکتر بابک امرا
استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، فوق تخصص بیماری‌های ایمونولوژی و آلرژی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران	۹- دکتر رضا امین
استاد، متخصص بیماری‌های پوست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۱۰- دکتر فریبا ایرجی
استاد، متخصص بیماری‌های پوست، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا	۱۱- دکتر کن باست
دانشیار، دکترای تخصصی روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۱۲- دکتر رضا باقریان سرارودی
استاد، متخصص روانپزشکی، فلوشیپ نوروسایکیاتری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۱۳- دکتر مجید برکتین
دکترای تخصصی زیست‌شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند	۱۴- دکتر فرزین پور فرزاد
استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۱۵- دکتر مسعود پورمقدس
استاد، متخصص مغز و اعصاب، فلوشیپ بیماری‌های حرکتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۱۶- دکتر احمد چیت‌ساز
استاد، متخصص رادیولوژی، فلوشیپ رادیولوژی مغز و اعصاب و کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۱۷- دکتر علی حکمت‌نیا
استاد، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۱۸- دکتر سید مرتضی حیدری
دانشیار، دکترای تخصصی ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۱۹- دکتر مجید خیراللهی
دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۲۰- دکتر بهناز خانی
استادیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۲۱- دکتر مریم راداحمدی
استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۲۲- دکتر حسن رزمجو
استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۲۳- دکتر رضا روزبهانی
استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران	۲۴- دکتر مسعود سهیلیان
استاد، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۲۵- دکتر محمدرضا شریفی
استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۲۶- دکتر منصور شعله‌ور
استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۲۷- دکتر رسول صالحی
استاد، متخصص جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۲۸- دکتر مسیح صبوری
دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۲۹- دکتر محمدرضا صفوی
استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا	۳۰- دکتر خسرو عادل‌لی
استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لوئیس ویل، آمریکا	۳۱- دکتر سعید عندلیب جرتانی
استاد، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۳۲- دکتر زیبا فرج‌زادگان
استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۳۳- دکتر رویا کلیشادی
دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۳۴- دکتر جعفر گلشاهی
استاد، متخصص بیماری‌های پوست، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا	۳۵- دکتر عزیز گهری
استاد، متخصص آسیب‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۳۶- دکتر پروین محزونی
استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران	۳۷- دکتر سید مهدی مدرس
استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۳۸- دکتر محمد مردانی
استاد، فوق تخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، آمریکا	۳۹- دکتر آتیه مغیثی
استادیار، دکترای تخصصی اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران	۴۰- دکتر مرجان منصوریان
استاد، متخصص فیزیوتراپی، جرجیا، آمریکا	۴۱- دکتر محمدرضا نوربخش
دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران	۴۲- دکتر مصطفی هاشمی



راهنمای نگارش و ارسال مقاله علمی - پژوهشی

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

هیأت تحریریه پس از دریافت مقالات اقدام به بررسی مقاله از لحاظ ساختاری و موضوعی می‌نماید و چنانچه مقاله در بررسی اولیه مورد تأیید باشد، برای داوری ارسال می‌شود. زمان فرایند داوری (از دریافت تا پذیرش نهایی آن) ۳ ماه و در صورت تقاضا جهت بررسی سریع‌تر با شرایط ذکر شده در راهنمای نویسندگان ۲۵-۲۰ روز می‌باشد. لازم به ذکر است داوری و انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است. لذا پس از انجام مراحل داوری و پذیرش مقاله و قبل از صدور نامه پذیرش، لازم است نویسندگان محترم فرایند مالی را تکمیل نمایند.

نحوه ارسال دست نوشته‌ها در سامانه

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

توجه به نکات زیر در ارسال مقاله ضروری است:

- ارسال مقاله منحصراً از طریق ثبت نام در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی انجام می‌شود. لازم است فقط نویسنده مسؤول اقدام به سابمیت مقاله نماید و مقالاتی که توسط سایر نویسندگان یا اشخاص دیگر سابمیت شوند مورد بررسی قرار نخواهند گرفت.
- نویسنده‌ای که برای بار دوم اقدام به ارسال مقاله اصلاح شده خود می‌نماید، حتماً باید از طریق صفحه شخصی قبلی خود اقدام نموده و به هیچ عنوان دوباره به عنوان کاربر جدید و با ایمیل جدید در سامانه ثبت نام نکند.
- وارد کردن اسامی تمامی نویسندگان در سامانه و در محل مربوط به وارد کردن اسامی نویسندگان مقاله، الزامی است.
- پس از ارسال مقاله، تغییر اسامی نویسندگان امکان پذیر نمی‌باشد.
- فایل‌هایی که نویسنده در مرحله اولیه ارسال می‌کنند شامل: (۱) فایل Word صفحه عنوان (۲) فایل Word دست نوشته، (۳) فرم تعهدنامه، (۴) فرم مشخصات کامل نویسندگان (Cover letter) است که به ترتیب بایستی آپلود گردند.
- نویسندگان در قسمت ارسال فایل‌ها، با ارسال یک فایل تعهد نامه که به امضای همه نویسندگان رسیده است، حق انتشار مقاله را به مجله دانشکده پزشکی اصفهان واگذار می‌نمایند. در غیر این صورت مقاله در روند داوری قرار نخواهد گرفت.
- مقالات ارسالی باید دارای فایل مجزا (Cover letter) شامل یک نامه خطاب به سردبیر حاوی عنوان مقاله، اسم، آدرس و ایمیل نویسنده مسؤول، اسامی و ایمیل سایر نویسندگان باشد. در این نامه بایستی به صراحت اعلام گردد که دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد.
- در مرحله دوم بعد از این که دست نوشته از نظر همراستایی و فرمت مجله مورد ارزیابی اولیه قرار گرفت و تأییدیه دفتر مجله در خصوص قابل ارجاع بودن آن دست نوشته برای شروع فرایند داوری ارسال گردید، ضروری است ۵۰ درصد کل هزینه به منظور شروع فرآیند داوری به عنوان (Processing fee) بر اساس موارد ذکر شده در بخش هزینه انتشار راهنمای نویسندگان پرداخت گردد. این هزینه غیر قابل برگشت می‌باشد. سپس فایل مربوط به تصویر اسکن شده فیش پرداختی فقط با نام نویسنده مسؤول از طریق سایت به دفتر مجله ارسال گردد. لازم به ذکر است تنظیم دست نوشته بر اساس فرمت مجله، و پرداخت وجه اولیه فقط جهت ارسال به داوران بوده و دال بر پذیرش آن نمی‌باشد.

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

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

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

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

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

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

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

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

تبصره ۱- مقالات ترجمه پذیرفته نمی‌شود.

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

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

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

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

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

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

صفحه عنوان: این صفحه باید شامل عنوان کامل، عنوان مکرری، اسامی نویسندگان یا نویسندگان بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان و همچنین آدرس، تلفن، فاکس و پست الکترونیکی نویسنده مسؤول و تقدیر و تشکر (شامل تشکر از افراد، شماره طرح پژوهشی و یا پایان نامه، ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی) باشد. ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست‌نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

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

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

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

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

- مقدمه و معرفی: در این بخش اهداف و علل انجام مطالعه آورده می‌شود؛ بنابراین نیازی به ارائه گسترده مطالب موجود در متون علمی نیست. در این بخش باید از ارائه اطلاعات، یافته‌های و نتایج مطالعه خودداری گردد.

- روش‌ها: این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط منع آن ذکر گردد اما اگر روشی نوین است، باید به صورتی توضیح داده شود که برای سایر محققان قابل درک و به طور عینی قابل انجام و تکرار باشد. در صورت استفاده از دستگاه و تجهیزات خاص باید نام، نام کارخانه سازنده و آدرس آن در پرانتز ذکر گردد. اگر از دارو در مطالعه استفاده شده است باید نام ژنریک، دوز و روش مصرف آن آورده شود. در مورد افراد و بیماران تحت مطالعه باید جنس و سن (همراه انحراف معیار) آورده شود. در مورد نرم‌افزارها و سیستم‌های کامپیوتری باید سال و ویرایش آن در پرانتز و پس از نام آن ذکر گردد.

در صورتی که مطالعه دارای پرسش‌نامه یا چک لیست است، ضمیمه کردن آن لازم است؛ شیوه تأمین روایی مشخص شود و توصیف دقیق فرآیند اجرایی برای رواسازی آن توضیح داده شود. چگونگی تعیین روش‌های مورد استفاده برای تأمین پایایی پرسش‌نامه و گزارش نتایج آزمون‌های آماری به کار گرفته شده جهت تأمین پایایی توضیح داده شود. در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

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

- بحث: در این بخش در ابتدا به یافته‌های مهم اساسی مطالعه و سپس تشابه و تفاوت‌های آن با یافته‌های سایر پژوهشگران در مطالعات مشابه اشاره می‌گردد. ذکر جزئیات کامل یافته‌ها در این بخش لازم نیست. تأکید بر یافته‌های جدید و با اهمیت مطالعه حاضر و دستاوردهای آن در این قسمت ضروری است. ذکر این که فرضیه ارائه شده در مطالعه صحیح یا نادرست بوده، یا این که دلایل کافی برای رد یا قبول آن به دست نیامده است، ضروری می‌باشد. هدف این بخش، ذکر دلیل اصلی انجام تحقیق، تحلیل و تفسیر یافته‌ها و همچنین نتیجه‌گیری کلی (Conclusion) است.

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

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

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

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

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

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

- اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

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

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

- منابع به صورت پایان نامه

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

- منابع به صورت الکترونیکی - مجله الکترونیکی روی اینترنت

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

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

منابع به صورت صفحه وب

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

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

- نمونه خوانی (Proofreading): یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤول ارسال می گردد که لازم است در کوتاه ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وبسایت مجله ارسال نماید.

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

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

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

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

ارزیابی جامع بیوانفورماتیکی بیان ترشحات هورمون رشد انسانی با توالی‌های راهنمای مناسب در *Escherichia Coli*: مطالعه‌ی *In Silico* ۸۹۰
عارف دوزنده جویباری، حمید رضا وزیری، شاهرخ قوتی، محمد مهدی سوهانی

ارزیابی میزان خطای محاسبات دز سیستم طراحی درمان در ریه هنگام درمان با الکترون به روش **Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy (3D-CRT)** ۹۰۰

محمدباقر توکلی، حسین طاهری، علی اخوان

فراوانی تداخلات دارویی در بیماران بخش‌های مراقبت‌های ویژه بیمارستان الزهراء (س) اصفهان ۹۰۵
پرویز کاشفی، سارا موسوی، علی حسینی

کاهش میزان بیان گیرنده‌ی فعال کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم گاما (**Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma**) یا **PPAR γ** در سرطان معده و ارتباط آن با پیشرفت تومور ۹۱۱
غلام بساطی، حدیثه محمدپور، امیر نادر امامی رضوی

مقاله کوتاه

بررسی اثر مصرف آب قره‌قاپ غنی‌سازی شده با امگا ۳ و مصرف جداگانه‌ی هر کدام به همراه درمان‌های غیر جراحی پریدنتال بر کنترل گلاسیمیک و پروفایل لیپیدی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ دچار بیماری پریدنتال ۹۱۹
احمد زارع جاوید، الناز اشرف زاده، حسین بابایی، حجت‌اله یوسفی منش، مهرانوش ذاکرکیش، کامبیز احمدی انگالی، غلامرضا عسگری

ارزیابی جامع بیوانفورماتیکی بیان ترشحی هورمون رشد انسانی با توالی‌های راهنمای مناسب در

Escherichia coli: مطالعه‌ی In Silico

عارف دوزنده جویباری^۱، حمیدرضا وزیری^۲، شاهرخ قوتی^۳، محمد مهدی سوهانی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: امروزه، مهندسی ژنتیک و بیوانفورماتیک، تولید انبوه پروتئین‌های نو ترکیب دارویی در باکتری *Escherichia coli* را که دارای ویژگی‌های منحصر به فرد بیانی است، به امری معمول و اقتصادی تبدیل کرده است. در این ارزیابی بیوانفورماتیکی، تولید پری‌پلاسمیک هورمون رشد انسانی بررسی گردید. هدف از انجام این تحقیق، ارزیابی جامع بیوانفورماتیکی ۴۸ توالی راهنمای انسانی توسط پایگاه‌های داده‌ی معتبر به منظور بررسی بیان پروتئین نو ترکیب هورمون رشد انسانی در میزبان *Escherichia coli* بود.

روش‌ها: با استفاده از پایگاه داده‌ی قدرتمند SignalP نسخه‌ی ۴/۱، صحت و دقت جایگاه برش تعداد ۴۸ توالی راهنما ارزیابی و گزینش شدند. خصوصیات فیزیکیوشیمیایی توالی راهنمای باقی‌مانده، توسط پایگاه‌های داده‌ی Genescript و ProtParam مورد بررسی قرار گرفتند. قابلیت حل شدن پروتئین، فعالیت ترشحی پس از بیان و ساز و کار انتقال توالی‌های راهنما توسط پایگاه‌های داده‌ی Solpro، ProtCompB و PRED-TAT، بررسی شدند.

یافته‌ها: بر اساس نتایج به دست آمده به صورت تئوری، توالی‌های راهنمای مناسب برای اتصال به پروتئین هورمون رشد انسانی به ترتیب فسفوپروتئین بزاقی غنی شده با پرولین (Proline rich protein HaellI subfamily 1 یا PRH1)، پروتئین ترشح شده‌ی C10orf99 و پپتید رها کننده‌ی پرولاکتین (PRLH یا Prolactin-releasing hormone) پیش‌بینی شد.

نتیجه‌گیری: بیان ترشحی، مزایایی را در مقابل بیان سیتوپلاسمیک ایجاد می‌کند. نتایج این تحقیق، نشان داد که با بررسی توالی‌های راهنمای مختلف در اتصال با پروتئین هورمون رشد انسانی، دستیابی به توالی‌های دارای پتانسیل و قابلیت بیان ترشحی بهتر امکان پذیر شده است. لازم است در مطالعات آتی صحت این نتایج بررسی گردد.

واژگان کلیدی: *Escherichia coli*، هورمون رشد انسانی، پری‌پلاسم، بیوانفورماتیک

ارجاع: دوزنده جویباری عارف، وزیری حمیدرضا، قوتی شاهرخ، سوهانی محمد مهدی. ارزیابی جامع بیوانفورماتیکی بیان ترشحی هورمون رشد انسانی با

توالی‌های راهنمای مناسب در *Escherichia coli*: مطالعه‌ی In Silico. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۰): ۸۹۹-۸۹۰

انسان می‌باشد (۱) و در درمان بیماری‌هایی نظیر نقص هورمون رشد کودکان، نقص رشد ناشی از نقص کلیوی مزمن تا زمان پیوند، نقص هورمون رشد بالغین، سندرم Turner، سندرم Prader-Willi، نقص ژن SHOX و سندرم Noonan نقش دارد (۲).

hGH طبیعی، پروتئینی غیر گلیکوزیله است و فرم‌های نو ترکیب آن، به طور گسترده در میزبان‌های پروکاریوتی، بیان شده‌اند. در میان

مقدمه

هورمون رشد انسانی (Human growth hormone یا hGH) یک پلی‌پپتید تک زنجیره‌ای شامل ۱۹۱ آمینواسید است که در غده‌ی هیپوفیز ساخته می‌شود. این هورمون که با نام سوماتوتروپین نیز شناخته می‌شود، به دلیل نقش محوری در اعمال زیستی مختلف شامل سوخت و ساز و تکثیر سلول، یکی از مهم‌ترین هورمون‌ها در بدن

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۴- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

پایگاه داده‌ی SignalP استفاده شد که به آدرس <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/> قابل دسترسی می‌باشد. SignalP از دقیق‌ترین و قابل اطمینان‌ترین ابزارهای موجود برای پیش‌بینی توالی‌های راهنما است و بهترین عملکرد را در تشخیص توالی‌های راهنما از توالی‌های پروتئینی با دقت ۸۷ درصد دارد (۸-۹). با استفاده از پایگاه داده‌ی SignalP نسخه‌ی ۴/۱ بر اساس هوش مصنوعی پیش‌بینی توالی‌های راهنمای احتمالی و جایگاه برش آن‌ها صورت گرفت. برای مطالعه‌ی نواحی سه گانه‌ی h, n و c توالی‌های راهنما از نسخه‌ی ۳ پایگاه داده‌ی SignalP استفاده شد (۱۰).

تجزیه و تحلیل *In Silico* ویژگی‌های فیزیوشیمیایی توالی‌های راهنما: با استفاده از پایگاه داده‌ی Protparam که به آدرس <http://web.expasy.org/protparam/> قابل دسترسی می‌باشد، ویژگی‌های فیزیوشیمیایی توالی‌های راهنمای مختلف شامل تعداد اسیدهای آمینه‌ی تشکیل دهنده، وزن ملکولی، شاخص ناپایداری، شاخص آلیفاتیک و GRAVY (میانگین کلی هیدروپاتیسیته) بررسی شد. ویژگی‌هایی نظیر بار خالص، pH ایزوالکتریک (Isoelectric point یا PI) توالی‌های راهنما نیز توسط قسمت Protein property calculator از سایت Genescript به آدرس https://www.genscript.com/ssl-bin/site2/peptide_calculation.cgi/ بررسی شد.

پیش‌بینی قابلیت حل شدن پروتئین: با استفاده از پایگاه داده‌ی SOLpro که به آدرس <http://scratch.proteomics.ics.uci.edu/> در دسترس می‌باشد، قابلیت حل شدن پروتئین پس از بیش‌بینی در *E. coli* پیش‌بینی شد. SOLpro از دقیق‌ترین نرم‌افزارهای موجود است و دقت آن بیش از ۷۴ درصد برآورد شده است (۱۱-۱۲).

پیش‌بینی فعالیت ترشحی پروتئین: با استفاده از نرم‌افزار SecretomeP نسخه‌ی ۲ که به آدرس <http://www.cbs.dtu.dk/services/SecretomeP/> در دسترس است، مقدار SecP score که معیاری برای سنجش قابلیت ترشح پروتئین است، به منظور ارزیابی میزان ترشح هورمون رشد انسانی به صورت فیوژن با استفاده از توالی‌های راهنمای مختلف بررسی شد (۱۳).

پیش‌بینی نوع ساز و کار انتقال پروتئین ترشحی: با استفاده از پایگاه داده‌ی PRED-TAT به آدرس <http://www.compgen.org/tools/PRED/TAT/> انواع ساز و کار ترشح Sec, Tat و TM هورمون رشد انسانی در اتصال با توالی‌های راهنمای مختلف پیش‌بینی شد (۱۴).

میزبان‌های پروکاریوتی، باکتری *Escherichia coli* (E. coli) به دلیل داشتن ویژگی‌هایی مانند کشت به نسبت آسان و ارزان، دستیابی سریع به تراکم بالا، ژنتیک شناخته شده و تنوع ابزارهای ملکولی در دسترس، دارای برتری است. البته، فرایان hGH در *E. coli* منجر به تجمع پروتئین نامحلول به صورت اجسام انکلوزیونی می‌شود. یک روش برای جلوگیری از تشکیل اجسام انکلوزیونی، ترشح hGH به فضای پری‌پلاسمیک *E. coli* با استفاده از توالی‌های راهنمای مناسب است (۳). در تولید ترشحی، به دلیل کاهش آلودگی ناشی از اجزای مختلف سلولی و تخریب پروتئولیتیک توسط پروتئازهای درون سلولی، جداسازی و خالص‌سازی محصولات فرایان شده، تسهیل می‌شود (۴).

انتقال از سیتوزول به فضای پری‌پلاسم *E. coli* توسط مسیر وابسته به Sec برای پری‌پروتئین‌های تانخورده و مسیر جابه‌جایی دوگانه‌ی آرژنین (Tat) برای انتقال پری‌پروتئین‌های تاخورده، انجام می‌شود. هنگام عبور پری‌پروتئین از طریق کانال Tat A یا Sec YEG از غشای داخلی، توالی راهنما به وسیله‌ی سیگنال پپتیداز، جدا می‌شود (۵).

مطالعات مختلف اثبات کرده‌اند که انتخاب توالی راهنما، گزینه‌ی اصلی برای ترشح کارآمد پروتئین نوترکیب در *E. coli* است. برخی از مطالعات تجربی و آزمایشگاهی از ساز و کار ترشحی برای بیان هورمون رشد انسانی نوترکیب در *E. coli* استفاده کرده‌اند (۶). مطالعات *In silico* نشان داده‌اند که hGH نوترکیب هدایت شده به پری‌پلاسم، می‌تواند از توالی راهنما جدا شود (۷).

در این مطالعه، توالی‌های راهنمای انسانی و پتانسیل آن‌ها با استفاده از پایگاه‌های داده‌ی بیوانفورماتیکی برای ارزیابی ترشح کارآمد هورمون رشد انسانی نوترکیب در *E. coli* بررسی شد. به طور خلاصه، هدف از انجام این مطالعه، بررسی ۴۸ عدد از توالی‌های راهنمای انسانی به منظور دستیابی به توالی‌هایی بود که از لحاظ تئوری، بیشترین قابلیت بیان ترشحی به صورت فیوژن با هورمون رشد انسانی را در *E. coli* دارند.

روش‌ها

استخراج توالی‌های راهنما: توالی اسید آمینه‌ی ۴۸ عدد از توالی‌های راهنمای ترشحی با منشأ انسانی که پتانسیل ترشحی آن‌ها تأیید شده بود، با استفاده از پایگاه داده‌ی UniPortKB، از پایگاه داده‌ی Expasy جمع‌آوری شد. توالی‌های به دست آمده، با هدف معرفی توالی راهنمای مناسب برای افزایش ترشح hGH در میزبان *E. coli*، مورد بررسی قرار گرفتند.

پیش‌بینی جایگاه برش توالی‌های راهنما: در این پژوهش، از

یافته‌ها

برای دستیابی به توالی‌های راهنمای مطلوب، توالی آمینواسیدی ۴۸ عدد از توالی‌های راهنمای ترشحی با منشأ انسانی دارای پتانسیل ترشحی تأیید شده، از پایگاه داده‌ی UniProtKB برای بررسی دقیق در اتصال با توالی هورمون رشد انسانی، استخراج و ارزیابی شدند (جدول ۱).

در این مطالعه، از نسخه‌ی ۴/۱ پایگاه داده‌ی SignalP برای پیش‌بینی توالی‌های راهنمای مناسب در اتصال با hGH در میزبان *E. coli* استفاده شد. توالی‌های راهنما به طور معمول از ۳ ناحیه‌ی متفاوت تشکیل شده‌اند که شامل ناحیه‌ی انتهای N اغلب حاوی اسیدهای آمینه‌ی بازی، ناحیه‌ی آب‌گریز (ناحیه‌ی h) حاوی حداقل ۶ اسید آمینه و ناحیه‌ی انتهای C دارای اسیدهای آمینه‌ی قطبی بدون بار می‌باشند. برای تعیین نواحی سه‌گانه‌ی h، n و c در توالی‌های راهنما، از نسخه‌ی ۳ پایگاه داده‌ی SignalP استفاده شد (۱۰) (جدول ۲).

بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی تعداد ۳۲ توالی راهنمای مختلف باقی‌مانده، با استفاده از پایگاه داده‌ی Protparam صورت گرفت. بار خالص، GRAVY، شاخص‌های آلفاتیکی و شاخص ناپایداری توالی‌های راهنما مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۳).

با بررسی‌های صورت گرفته و نتایج حاصل از آن‌ها، به منظور انتخاب و رتبه‌بندی مناسب‌ترین توالی‌های راهنما در اتصال با hGH، توالی‌های تجزیه و تحلیل شده بر اساس ۵ شاخص آلفاتیکی، h، GRAVY Grand average of hydrophathy، D-Score، طول ناحیه‌ی h و محل استقرار با یکدیگر مقایسه شدند. سپس مرتب‌سازی توالی‌های راهنما بر اساس شاخص آلفاتیکی انجام شد و تعداد ۱۶ توالی راهنما با شاخص بالاتر از ۱۵۰، برای ارزیابی‌های بیشتر مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۴).

از ویژگی‌های مهم هر پروتئین، قابلیت حل شدن است که رابطه‌ی مستقیم با چیدمان توالی اسیدآمینه‌ی آن دارد و از عوامل مهم در پروتئین‌های نوترکیب دارویی محسوب می‌شود. پایگاه‌های داده‌ی مختلفی برای پیش‌بینی قابلیت حل شدن پروتئین وجود دارد که در بین همه‌ی آن‌ها، پایگاه داده‌ی SOLpro دارای بیشترین دقت و اطمینان است (۱۲). قابلیت حل شدن پروتئین hGH در اتصال با توالی‌های راهنمای مختلف و نتایج درصد حلالیت مربوط به هر ساختار در جدول ۳ آمده است.

با استفاده از نسخه‌ی ۲ پایگاه داده‌ی SecretomeP، می‌توان میزان ترشح پروتئین مورد نظر را با استفاده از توالی‌های راهنمای مختلف بررسی کرد و مقادیر SecP score را برای هر توالی راهنما به دست آورد. بررسی ساز و کار انتقال توالی‌های راهنمای منتخب توسط پایگاه داده‌ی PRED-TAT، بر اساس ساز و کار ترشحی Sec، Tat و یا TM انجام شد (جدول ۴).

بحث

در مطالعات مختلف، روش‌های بیوانفورماتیکی در بسیاری از زمینه‌های زیست‌شناختی به منظور کاهش هزینه‌ها و افزایش صحت مطالعات تجربی به کار رفته است، اما ماهیت پیش‌بینی‌کننده‌ی مطالعات بیوانفورماتیکی علاوه بر کاهش زمان و هزینه‌ی آزمایش، می‌تواند به عنوان یک محدودیت نیز برشمرده شود. در این مطالعه نیز با توجه به موارد پیش‌گفته، سعی گردید از پایگاه‌های داده‌ی مختلفی استفاده شود تا نتایج دارای صحت بالاتری حاصل شود. در پروتئین‌ها، فرایان پروتئین هترولوگ منجر به تاخوردگی نامناسب می‌شود (۱۶-۱۵). با افزودن توالی راهنمای مناسب به انتهای N، می‌توان پروتئین‌ها را به فضای پری‌پلاسمیک هدایت کرد و مشکل را برطرف نمود (۱۷). برای این هدف، ابزارهای محاسباتی مختلفی برای پیش‌بینی و شناسایی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی یک توالی راهنما مثل وزن مولکولی، نقطه‌ی ایزوالکتریک، GRAVY، شاخص آلفاتیکی و ... وجود دارد (۱۶، ۷).

توالی‌های راهنمای انتخاب شده جهت کسب مقادیر بیشتر ترشح hGH در میزبان *E. coli*، مقایسه شدند. پایگاه UniProtKB از صحت مناسبی برخوردار است؛ به نحوی که در بیشتر مطالعات آزمایشگاهی و بیوانفورماتیکی، برای استخراج داده‌های خام جهت بررسی قابلیت ترشحی آن‌ها، از این پایگاه استفاده می‌شود (۱۸).

مهم‌ترین خروجی حاصل از نسخه‌ی ۴/۱ پایگاه داده‌ی SignalP شامل نمره‌ی D می‌باشد، که برای تشخیص توالی‌های راهنمای مناسب به کار می‌رود. در این مطالعه، این مقدار به طور پیش‌فرض روی ۰/۵ تنظیم شد. معیار دیگر برای بررسی قدرت برش توالی‌های راهنما که از پایگاه داده‌ی SignalP قابل استخراج می‌باشد، درصد احتمال برش است که در توالی‌های راهنمای بررسی شده به طور معمول بالاتر از ۰/۸ بود و به همراه D-score نشان‌دهنده‌ی توانایی لازم توالی‌های مورد بررسی برای برش در جایگاه صحیح است.

نتایج ارزیابی با استفاده از پایگاه داده‌ی SignalP نشان داد که در بین توالی‌های مورد بررسی، ۹ توالی راهنما دارای D-score پایین‌تر از ۰/۵ بودند و در نتیجه، به دلیل عدم توانایی کافی به عنوان توالی راهنمای مناسب و همچنین، عدم وجود پتانسیل لازم برای برش خوردن در جایگاه صحیح، از ادامه‌ی فرآیند بررسی حذف شدند. همچنین، نتایج ارزیابی با این پایگاه داده، نشان داد اگر چه ۷ عدد از توالی‌ها D-score بالاتر از ۰/۵ دارند، اما فاقد پتانسیل برش‌پذیری در جایگاه مناسب هستند؛ در نتیجه، این توالی‌ها نیز حذف شدند؛ چرا که فاقد قابلیت لازم جهت ادامه‌ی مراحل بررسی بودند و به سبب باقی‌گذاشتن بقایای اسید آمینه‌ای نادرست، احتمال ایجاد

جدول ۱. لیست توالی‌های راهنما

ردیف	نام توالی راهنما	نام ژن	شماره‌ی دسترسی	توالی اسید آمینه‌ای
۱	Progonadoliberin-1	GNRH1	P01148	<u>MKPIQKLLAGLILLTWCVEGCSS*</u>
۲	Calcitonin gene-related peptide 1	CALCA	P06881	<u>MGFQKFSPLFALSILVLLQAGSLHA</u>
۳	ADM	ADM	P35318	<u>MKLVSVALMYLGSALFLGADT</u>
۴	Relaxin-3	RLN3	Q8WXF3	<u>MARYMLLLLLAVVWL TGELWPGAEA</u>
۵	Urocortin-2	UCN2	Q96RP3	<u>MTRCALLLLMVLMLGRVLPVPV</u>
۶	Guanylate cyclase activator 2B	GUCA2B	Q16661	<u>MGCRAASGLLPVAVVLLLLLQSTQS</u>
۷	Calcitonin gene-related peptide 2	CALCB	P10092	<u>MGFRKFSPLFALSILVLYQAGSLQA</u>
۸	Neuroendocrine protein 7B2	SCG5	P05408	<u>MVSRMVSTMLSGLLFWLASGWTPAFA</u>
۹	Prolactin-releasing peptide	PRLH	P81277	<u>MKVLRAWLLCLLMLGLALRGAA</u>
۱۰	Transforming growth factor beta-2	TGFB2	P61812	<u>MHYCVLSAFLILHLVTVALS</u>
۱۱	Insulin-like 3	INSL3	P51460	<u>MDPRLPAWALVLLGPALVFA</u>
۱۲	Klotho	KL	Q9UEF7	<u>MPASAPRRRPPPPPSLSLLVLLGLGRRRLRA</u>
۱۳	Meprin A subunit beta	MEP1B	Q16820	<u>MDLWNLWFLFLDALLVISGLA</u>
۱۴	Salivary acidic proline-rich phosphoprotein	PRH1	P02810	<u>MLLILLSVALLAFSSA</u>
۱۵	Interleukin-8	CXCL8	P10145	<u>MTSKLAVALLAAFLISAALC</u>
۱۶	Transforming growth factor beta-1	TGFB1	P01137	<u>MPPSGRLRLLLLLPLWLVLPGRPAAG</u>
۱۷	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein	HSPG2	P98160	<u>MGWRAAGALLLALLHGRLLA</u>
۱۸	Alpha-1-antitrypsin	SERPINA1	P01009	<u>MPSSVSWGILLLAGLCLVPVSLA</u>
۱۹	Plasminogen	PLG	P00747	<u>MEHKEVLLLLLFLKSGQG</u>
۲۰	Vitamin K-dependent protein C	PROC	P04070	<u>MWQLTSLLLFVATWGISG</u>
۲۱	Regenerating islet-derived protein 3-alpha	REG3A	Q06141	<u>MLPPMALPSVSWMLLSCLMSSQVQG</u>
۲۲	Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide	ADCYAP1	P18509	<u>MTMCSGARLALLVYGIIMHSSVYS</u>
۲۳	Pro-neuropeptide Y	NPY	P01303	<u>MLGNKRLGLSGLTLALSLLVCLGALAEA</u>
۲۴	Xylosyltransferase 1	XYLT1	Q86Y38	<u>MVAAPCARRLARRRSHSALLAALT VLLQLV VWN</u>
۲۵	Neuroendocrine secretory protein 55	GNAS	O95467	<u>MDRRSRAQQWRRARHNYNDLCPPIGRRAATA</u> <u>LLWLSCSIALLRALA</u>
۲۶	Transforming growth factor beta-3	TGFB3	P10600	<u>MKMHLQRALVVLALLNFATVLSL</u>
۲۷	Glutaminyl-peptide cyclotransferase	QPCT	Q16769	<u>MAGGRHRRVGT LHL LLLVAALPWASRG</u>
۲۸	Protachykinin-1	TAC1	P20366	<u>MKILVALAVFFLVSTQLFA</u>
۲۹	Beta-defensin 4A	DEFB4A	O15263	<u>MRVLYLLFSFLFIFL MPLPGVFG</u>
۳۰	C-X-C motif chemokine 5	CXCL5	P42830	<u>MSLLSSRAARVPGSSSLCALLVLLLLLTPGPIAS</u>
۳۱	Galanin peptides	GAL	P22466	<u>MARGSALLASLLLAALS</u>
۳۲	CD5 antigen-like	CD5L	O43866	<u>MALLFSLIAICTRPGFLA</u>
۳۳	Progonadoliberin-2	GNRH2	O43555	<u>MASSRRGLLLLLLTAHLGPSEA</u>
۳۴	Tuberoinfundibular peptide of 39 residues	PTH2	Q96A98	<u>METROVSRSPRVRLLLLLLLLLLVVPWGVRT</u>
۳۵	Neurotensin/neuromedin N	NTS	P30990	<u>MMAGMKIQLVCMLLAFSSWSLC</u>
۳۶	Gastrin-releasing peptide	GRP	P07492	<u>MRGRELPLVLLALVLCLAPRGA</u>
۳۷	Promotilin	MLN	P12872	<u>MVSRKAVAALLVHVAAAMLASQTEA</u>
۳۸	C-type natriuretic peptide	NPPC	P23582	<u>MHLSQLLACALLTLLSLRPSEA</u>
۳۹	Orexigenic neuropeptide QRFP	QRFP	P83859	<u>MVRPYPLIYFLPLGAC</u>
۴۰	V-set and transmembrane domain-containing protein 4	VSTM4	Q8IW00	<u>MRL LALAAAALLARAPAEVCAA</u>
۴۱	Galanin-like peptide	GALP	Q9UBC7	<u>MAPPSVPLVLLVLLLSLAETPAS</u>
۴۲	Putative peptide YY-3	PYY3	Q5JQD4	<u>MVSVCRPWPAVAIALLALLVCLG</u>
۴۳	Follicular dendritic cell secreted peptide	FDCSP	Q8NFU4	<u>MKKVLLLITAILAVAVG</u>
۴۴	Secreted protein C10orf99	C10orf99	Q6UWK7	<u>MRLLVLSLLCILLLCSIFSTEG</u>
۴۵	Liver-expressed antimicrobial peptide 2	LEAP2	Q969E1	<u>MWHLKLCVLMIFLLLLGQIDG</u>
۴۶	Serine protease inhibitor Kazal-type 4	SPINK4	O60575	<u>MAVRQWVIALALAALLVVDREVPVAA</u>
۴۷	Urotensin-2B	UTS2B	Q76510	<u>MNKILSSTVCFGLLTLLSVLSFLQSVHG</u>
۴۸	Somatotropin	GH1	P01241	<u>MATGSRTSLLAFGLLCLPWLQEGSA</u>

*آمینواسیدهای برجسته، آن‌هایی که زیرشان خط کشیده شده و توالی میانی، به ترتیب نشان دهنده نواحی c n و h می‌باشند.

جدول ۲. بررسی In silico توالی‌های راهنما توسط پایگاه داده‌ی SignalP نسخه‌ی ۴/۱

نمره‌ی D	احتمال برش (درصد)	جایگاه برش	ناحیه‌ی c	ناحیه‌ی h	ناحیه‌ی n	توالی‌های راهنما
۰/۷۷۶	۰/۷۹۲	CSS-MF	(۱۸-۲۳) ۶	(۷-۱۷) ۱۱	(۱-۶) ۶	GNRH1
۰/۷۹۵	۰/۸۹۷	LHA-MF	(۱۹-۲۵) ۷	(۹-۱۸) ۱۰	(۱-۸) ۸	CALCA
۰/۶۱۵	۰/۴۳۷	LGA-DT	(۱۵-۲۱) ۷	(۴-۱۴) ۱۱	(۱-۳) ۳	ADM
۰/۸۷۰	۰/۹۶۰	AEA-MF	(۱۷-۲۵) ۹	(۶-۱۶) ۱۱	(۱-۵) ۵	RLN3
۰/۵۵۷	۰/۷۲۲	VLV-VP	(۱۵-۲۲) ۸	(۴-۱۴) ۱۱	(۱-۳) ۳	UCN2
۰/۸۵۹	۰/۹۳۵	TQS-MF	(۲۲-۲۶) ۵	(۱۲-۲۱) ۱۰	(۱-۱۱) ۱۱	GUCA2B
۰/۷۱۴	۰/۷۶۳	LQA-MF	(۱۸-۲۵) ۸	(۹-۱۷) ۹	(۱-۸) ۸	CALCB
۰/۵۷۶	۰/۹۲۵	AFA-MF	(۱۹-۲۶) ۸	(۹-۱۸) ۱۰	(۱-۸) ۸	SCG5
۰/۸۷۹	۰/۶۸۲	GAA-MF	(۱۸-۲۲) ۵	(۷-۱۷) ۱۱	(۱-۶) ۶	PRLH
۰/۶۵۹	۰/۹۱۳	ALS-MF	(۱۴-۲۰) ۷	(۴-۱۳) ۱۰	(۱-۳) ۳	TGFB2
۰/۴۷۳	-	NO	(۱۵-۲۰) ۶	(۷-۱۴) ۸	(۱-۶) ۶	INSL3
۰/۵۵۳	۰/۷۹۷	LRA-MF	(۲۷-۳۳) ۷	(۱۷-۲۶) ۱۰	(۱-۱۶) ۱۶	KL
۰/۴۰۴	-	NO	(۱۸-۲۲) ۵	(۷-۱۷) ۱۱	(۱-۶) ۶	MEP1B
۰/۸۷۸	۰/۸۶۵	SSA-MF	(۱۲-۱۶) ۵	(۳-۱۱) ۹	(۱-۲) ۲	PRH1
۰/۵۹۳	۰/۸۷۵	ALC-MF	(۱۶-۲۰) ۵	(۵-۱۵) ۱۱	(۱-۴) ۴	CXCL8
۰/۸۱۹	۰/۳۷۰	TPG-RP	(۲۱-۲۹) ۹	(۹-۲۰) ۱۲	(۱-۸) ۸	TGFB1
۰/۸۷۸	۰/۸۰۸	LLA-MF	(۱۷-۲۱) ۵	(۶-۱۶) ۱۰	(۱-۶) ۶	HSPG2
۰/۶۵۸	۰/۹۵۵	SLA-MF	(۲۰-۲۴) ۵	(۹-۱۹) ۱۱	(۱-۸) ۸	SERPINA1
۰/۶۹۵	۰/۹۵۵	GQG-MF	(۱۵-۱۹) ۵	(۶-۱۴) ۹	(۱-۵) ۵	PLG
۰/۵۶۰	۰/۶۳۰	ISG-MF	(۱۴-۱۸) ۵	(۴-۱۳) ۱۰	(۱-۳) ۳	PROC
۰/۸۵۳	۰/۹۸۳	VQG-MF	(۲۲-۲۶) ۵	(۱۱-۲۱) ۱۱	(۱-۱۰) ۱۰	REG3A
۰/۳۰۴	-	NO	(۱۹-۲۴) ۶	(۹-۱۸) ۱۰	(۱-۸) ۸	ADCYAP1
۰/۸۱۴	۰/۶۱۰	AEA-MF	(۲۳-۲۸) ۶	(۱۲-۲۲) ۱۱	(۱-۱۱) ۱۱	NPY
۰/۳۳۵	-	NO	(۳۴) ۱	(۱۷-۳۳) ۱۷	(۱-۱۶) ۱۶	XYLT1
۰/۱۸۷	-	NO	(۴۳-۴۶) ۴	(۳۰-۴۲) ۱۳	(۱-۲۹) ۲۹	GNAS
۰/۵۶۰	۰/۸۲۸	SLS-MF	(۱۷-۲۳) ۷	(۸-۱۶) ۹	(۱-۷) ۷	TGFB3
۰/۷۹۶	۰/۸۸۲	SRG-MF	(۲۱-۲۸) ۸	(۱۰-۲۰) ۱۱	(۱-۹) ۹	QPCT
۰/۴۹۶	-	NO	(۱۵-۱۹) ۵	(۳-۱۴) ۱۲	(۱-۲) ۲	TAC1
۰/۵۰۵	۰/۹۹۱	VFG-MF	(۱۶-۲۳) ۸	(۴-۱۵) ۱۲	(۱-۳) ۳	DEFB4A
۰/۷۵۸	۰/۷۹۷	IAS-MF	(۲۹-۳۶) ۸	(۱۸-۲۸) ۱۱	(۱-۱۷) ۱۷	CXCL5
۰/۷۶۵	۰/۷۴۴	AAA-LS	(۱۵-۱۹) ۵	(۶-۱۴) ۹	(۱-۵) ۵	GAL
۰/۷۰۰	۰/۴۴۶	GFL-AM	(۱۴-۱۹) ۶	(۳-۱۳) ۱۱	(۱-۲) ۲	CD5L
۰/۸۸۴	۰/۹۵۷	SEA-MF	(۱۷-۲۳) ۷	(۸-۱۶) ۹	(۱-۷) ۷	GNRH2
۰/۵۵۳	۰/۹۵۶	VRT-MF	(۲۵-۳۰) ۶	(۱۴-۲۴) ۱۱	(۱-۱۳) ۱۳	PTH2
۰/۵۹۸	۰/۷۰۵	SLC-MF	(۱۹-۲۳) ۵	(۸-۱۸) ۱۱	(۱-۷) ۷	NTS
۰/۸۴۶	۰/۹۹۲	GRA-MF	(۱۹-۲۳) ۵	(۸-۱۸) ۱۱	(۱-۷) ۷	GRP
۰/۷۶۲	۰/۸۱۷	TEA-MF	(۱۸-۲۵) ۸	(۷-۱۷) ۱۱	(۱-۶) ۶	MLN
۰/۸۷۵	۰/۹۶۵	SEA-MF	(۱۹-۲۳) ۵	(۶-۱۸) ۱۳	(۱-۵) ۵	NPPC
۰/۳۴۹	-	NO	(۱۷-۱۸) ۲	(۷-۱۶) ۱۰	(۱-۶) ۶	QRFP
۰/۶۲۸	۰/۶۰۵	VCA-AM	(۱۴-۲۳) ۱۰	(۳-۱۳) ۱۱	(۱-۲) ۲	VSTM4
۰/۸۴۴	۰/۵۶۳	SLA-ET	(۱۹-۲۴) ۶	(۸-۱۸) ۱۰	(۱-۷) ۷	GALP
۰/۳۷۹	-	NO	(۲۱-۲۳) ۳	(۱۱-۲۰) ۱۰	(۱-۱۰) ۱۰	PYY3
۰/۴۳۷	-	NO	(۱۳-۲۳) ۱۷	(۴-۱۲) ۹	(۱-۳) ۳	FDCSP
۰/۸۸۰	۰/۷۰۳	TEG-MF	(۱۶-۲۴) ۹	(۴-۱۵) ۱۲	(۱-۳) ۳	C10orf99
۰/۹۲۹	۰/۹۵۱	IDG-MF	(۱۸-۲۲) ۵	(۶-۱۷) ۱۲	(۱-۵) ۵	LEAP2
۰/۶۱۵	۰/۹۵۴	VAA-MF	(۱۹-۲۶) ۹	(۷-۱۸) ۱۲	(۱-۶) ۶	SPINK4
۰/۸۴۶	۰/۹۲۴	VHG-MF	(۲۱-۲۸) ۸	(۱۰-۲۰) ۱۱	(۱-۹) ۹	UTS2B
۰/۷۶۴	۰/۹۲۱	GSA-MF	(۱۹-۲۶) ۸	(۹-۱۸) ۱۰	(۱-۸) ۸	GH1

No: توالی راهنما دارای جایگاه برش در انتهای ناحیه‌ی c نمی‌باشد.

در مطالعه‌ی زمانی و همکاران، از پایگاه داده‌ی SignalP برای پیش‌بینی جایگاه برش توالی‌های راهنما استفاده شد و ۲۲ توالی راهنمای پروکاریوتی و توالی راهنمای خود هورمون رشد انسانی در اتصال با این هورمون جهت ترشح بررسی شدند. نتایج مطالعه‌ی آن‌ها نشان داد که تنها ۱۷ توالی راهنما واجد شرایط مناسب برای ادامه‌ی بررسی بودند (۷).

مشکلات پس از بیان ژن هدف در *E. coli* را افزایش می‌دهند و ممکن است ساختار سه بعدی پروتئین هورمون رشد انسانی را تغییر دهند که می‌تواند موجب ایجاد مشکلاتی در عملکرد و کارایی پروتئین شود. در نهایت، بر اساس نتایج حاصل از پایگاه داده‌ی SignalP، تعداد ۳۲ توالی راهنما واجد جایگاه برش صحیح و قدرت برش مناسب بودند که در ادامه‌ی بررسی‌ها ارزیابی شدند (جدول ۲).

جدول ۳. تعیین ویژگی‌های فیزیوشیمیایی توالی‌های راهنما توسط ProtParam و SOLpro

ردیف	توالی‌های راهنما	طول اسید آمینه	وزن ملکولی	PI	بار خالص	GRAVY	شاخص آیفاتیکی	شاخص ناپایداری	قابلیت حل شدن	درصد قابلیت حل شدن
۱	GNRH1	۲۳	۲۵۰۴/۱	۷/۸۱	۰/۸۲	۰/۸۹۱	۱۳۵/۶۵	۹/۵۳	INSOLUBLE	۰/۷۶
۲	CALCA	۲۵	۲۶۸۹/۲	۸/۵۲	۱/۱۱	۱/۱۳۲	۱۳۲/۸۰	۵۵/۶۲	INSOLUBLE	۰/۸۱
۳	RLN3	۲۵	۲۸۱۷/۴	۴/۵۳	-۱/۰۰	۱/۱۳۲	۱۴۸/۴۰	۲۵/۳۶	INSOLUBLE	۰/۸۰
۴	GUCA2B	۲۶	۲۵۹۸/۱	۸/۰۰	۰/۹۱	۱/۲۱۵	۱۵۰/۰۰	۶۰/۴۶	INSOLUBLE	۰/۷۲
۵	CALCB	۲۵	۲۷۵۸/۳	۹۹/۹	۲/۰۰	۰/۸۷۶	۱۱۷/۲۰	۵۵/۶۲	INSOLUBLE	۰/۸۲
۶	SCG5	۲۶	۲۸۶۰/۴	۹/۵۰	۱/۰۰	۱/۰۳۸	۹۳/۸۵	۲۸/۱۴	INSOLUBLE	۰/۷۹
۷	PRLH	۲۲	۲۴۱۳/۱	۱۰/۸۶	۲/۹۱	۱/۵۲۳	۱۷۳/۱۸	۲۹/۸۴	INSOLUBLE	۰/۸۴
۸	TGFB2	۲۰	۲۲۳۰/۷	۶/۶۸	۰/۱۳	۱/۸۴۵	۱۷۰/۵۰	۶۱/۷۳	INSOLUBLE	۰/۸۲
۹	KL	۳۳	۳۵۱۳/۳	۱۲/۷۰	۶/۰۰	-۰/۴۵	۱۱۲/۴۲	۱۱۵/۲۶	INSOLUBLE	۰/۸۰
۱۰	PRH1	۱۶	۱۶۶۲/۱	۵/۲۸	۰/۰۰	۲/۴۵۰	۲۰۷/۵۰	۲۳/۴۵	INSOLUBLE	۰/۸۱
۱۱	CXCL8	۲۰	۲۰۰۷/۵	۷/۹۸	۰/۹۱	۱/۹۷۵	۱۶۱/۵۰	۳/۸۱	INSOLUBLE	۰/۸۱
۱۲	HSPG2	۲۱	۲۲۱۶/۷	۱۲/۰۰	۲/۱۱	۱/۲۸۶	۱۷۲/۳۸	۶/۴۲	INSOLUBLE	۰/۸۳
۱۳	SERPINA1	۲۴	۲۴۳۰/۰	۵/۲۷	-۰/۱۸	۱/۷۶۲	۱۵۸/۳۳	۶۸/۱۸	INSOLUBLE	۰/۷۲
۱۴	PLG	۱۹	۲۱۵۴/۶	۶/۵۱	۰/۱۱	۰/۶۷۴	۱۵۳/۶۸	۱۳/۵۰	INSOLUBLE	۰/۶۶
۱۵	PROC	۱۸	۲۰۲۳/۴	۵/۲۸	۰/۰۰	۱/۱۸۳	۱۳۰/۰۰	-۹/۳۸	INSOLUBLE	۰/۷۴
۱۶	REG3A	۲۶	۲۸۴۶/۵	۵/۲۷	-۰/۰۹	۱/۱۷۷	۱۳۱/۱۵	۷۴/۶۵	INSOLUBLE	۰/۸۱
۱۷	NPY	۲۸	۲۷۹۸/۴	۷/۹۸	۰/۹۱	۱/۳۳۲	۱۶۳/۹۳	۳۰/۵۶	INSOLUBLE	۰/۷۹
۱۸	TGFB3	۲۳	۲۵۵۶/۱	۱۱/۰۰	۲/۱۱	۱/۱۵۲	۱۵۲/۶۱	۵۶/۲۸	INSOLUBLE	۰/۸۱
۱۹	QPCT	۲۸	۳۰۰۸/۶	۱۲/۴۸	۴/۲۲	۰/۵۱۸	۱۲۸/۹۳	۴۴/۰۶	INSOLUBLE	۰/۷۸
۲۰	DEFB4A	۲۳	۲۷۲۱/۴	۸/۵۰	۱/۰۰	۱/۸۶۵	۱۴۳/۹۱	۳۳/۷۷	INSOLUBLE	۰/۷۷
۲۱	CXCL5	۳۶	۳۶۳۳/۴	۱۰/۳۵	۱/۹۱	۱/۰۱۴	۱۴۶/۳۹	۵۷/۲۸	INSOLUBLE	۰/۷۰
۲۲	GNRH2	۲۳	۲۴۱۹/۹	۹/۳۷	۱/۱۱	۰/۸۱۷	۱۴۸/۷۰	۶۵/۹۵	INSOLUBLE	۰/۷۴
۲۳	PTH2	۳۰	۳۵۱۵/۳	۱۲/۱۸	۴/۰۰	۰/۶۷۰	۱۶۵/۳۳	۴۸/۷۸	INSOLUBLE	۰/۷۰
۲۴	NTS	۲۳	۲۵۷۷/۲	۷/۸۲	۰/۸۲	۱/۵۴۸	۱۲۳/۰۴	۳۲/۵۳	INSOLUBLE	۰/۷۹
۲۵	GRP	۲۳	۲۵۱۸/۱	۱۱/۵۲	۲/۹۱	۰/۸۳۹	۱۵۶/۹۶	۲۰/۷۵	INSOLUBLE	۰/۸۴
۲۶	MLN	۲۵	۲۵۶۷/۱	۸/۵۲	۱/۱۱	۱/۱۱۶	۱۳۲/۸۰	۳۲/۸۱	INSOLUBLE	۰/۸۳
۲۷	NPPC	۲۳	۲۴۹۴/۰	۶/۵۰	۰/۰۲	۱/۰۷۰	۱۶۵/۶۵	۹۵/۴۴	INSOLUBLE	۰/۷۶
۲۸	C10orf99	۲۴	۲۶۷۲/۳	۵/۷۵	-۰/۱۸	۱/۸۲۵	۱۷۴/۵۸	۳۰/۵۲	INSOLUBLE	۰/۸۱
۲۹	LEAP2	۲۲	۲۵۲۸/۲	۶/۴۹	۰/۰۲	۱/۵۸۶	۱۷۷/۲۷	۱۲/۵۹	INSOLUBLE	۰/۷۷
۳۰	SPINK4	۲۶	۲۷۷۵/۳	۵/۸۲	۰/۰۰	۱/۴۳۸	۱۶۸/۸۵	۲۴/۶۴	INSOLUBLE	۰/۸۳
۳۱	UTS2B	۲۸	۳۰۰۸/۶	۸/۰۰	۱/۰۲	۱/۱۹۳	۱۴۲/۵۰	۵۲/۴۶	INSOLUBLE	۰/۸۱
۳۲	GH1	۲۶	۲۷۳۶/۲	۵/۷۵	-۰/۰۹	۰/۷۷۷	۱۱۶/۵۴	۵۶/۹۰	INSOLUBLE	۰/۷۴

PI: Isoelectric point; GRAVY: Grand average of hydrophathy

جدول ۴. مرتب کردن توالی‌های راهنما بر اساس شاخص آلیفاتیک، GRAVY، طول ناحیه‌ی h و D-score به همراه ارزیابی نوع و فعالیت ترشحي

توالی‌های راهنما

ردیف	توالی‌های راهنما	شاخص آلیفاتیک	GRAVY	نمره‌ی D	طول ناحیه‌ی h	مکانیسم	نمره‌ی Sec	نمره‌ی اطمینان
۱	PRH1	۲۰۷/۵۰	۲/۴۵۰	۰/۸۷۸	۹	Sec	۰/۹۱۱	۰/۹۲۶
۲	LEAP2	۱۷۷/۲۷	۱/۵۸۶	۰/۹۲۹	۱۲	TM	۰/۹۱۳	۰/۸۸۳
۳	C10orf99	۱۷۴/۵۸	۱/۸۲۵	۰/۸۸۰	۱۲	Sec	۰/۹۲۹	۰/۹۸۳
۴	PRLH	۱۷۳/۱۸	۱/۵۲۳	۰/۸۷۹	۱۱	Sec	۰/۹۲۱	۰/۹۹۴
۵	HSPG2	۱۷۲/۳۸	۱/۲۸۶	۰/۸۷۸	۱۰	Sec	۰/۹۲۱	۰/۹۷۱
۶	TGFB2	۱۷۰/۵۰	۱/۸۴۵	۰/۶۵۹	۱۰	TM	۰/۸۸۴	۰/۷۸۶
۷	SPINK4	۱۶۸/۸۵	۱/۴۳۸	۰/۶۱۵	۱۲	Sec	۰/۸۰۳	۰/۹۷۲
۸	NPPC	۱۶۵/۶۵	۱/۰۷۰	۰/۸۷۵	۱۳	Sec	۰/۹۰۸	۰/۹۹۳
۹	PTH2	۱۶۵/۳۳	۰/۶۷۰	۰/۵۵۳	۱۱	TM	۰/۸۳۵	۰/۷۷۳
۱۰	NPY	۱۶۳/۹۳	۱/۲۳۲	۰/۸۱۴	۱۱	Sec	۰/۹۱۹	۰/۹۹۴
۱۱	CXCL8	۱۶۱/۵۰	۱/۹۷۵	۰/۵۹۳	۱۱	Sec	۰/۹۱۴	۰/۹۴۴
۱۲	SERPINA1	۱۵۸/۳۳	۱/۷۶۲	۰/۶۵۸	۱۱	Sec	۰/۹۰۷	۰/۹۷۸
۱۳	GRP	۱۵۶/۹۶	۰/۸۳۹	۰/۸۴۶	۱۱	Sec	۰/۸۶۵	۰/۹۸۹
۱۴	PLG	۱۵۳/۶۸	۰/۶۷۴	۰/۶۹۵	۹	TM	۰/۸۴۹	۰/۸۲۸
۱۵	TGFB3	۱۵۲/۶۱	۱/۱۵۲	۰/۵۶۰	۹	Sec	۰/۹۰۷	۰/۹۳۸
۱۶	GUCA2B	۱۵۰/۰۰	۱/۲۱۵	۰/۸۵۹	۱۰	Sec	۰/۸۸۹	۰/۹۹۳

شاخص می‌تواند به عنوان عامل مثبتی برای افزایش پایداری دمایی پروتئین‌ها محسوب شود؛ به طوری که شاخص آلیفاتیک پروتئین‌های باکتری‌های ترموفیل به طور قابل توجهی از پروتئین‌های معمولی بالاتر است (۲۲). در این مطالعه، توالی‌های دارای مقادیر بالاتر از ۱۵۰ انتخاب شدند. شاخص ناپایداری که پایداری دمایی پروتئین‌ها را در حالت طبیعی بر اساس ساختمان اولیه پروتئین‌ها برآورد می‌نماید، برای توالی‌های منتخب محاسبه شد (جدول ۳). پروتئین‌های دارای شاخص ناپایداری کمتر از ۴۰، پایدار و پروتئین‌های بالاتر از ۴۰ به عنوان ناپایدار پیش‌بینی می‌شوند (۲۳).

سطوح هیدروفوبیسیته توالی‌های راهنما می‌تواند با شاخص آلیفاتیک و GRAVY نشان داده شود. بنابراین، مهم‌ترین شاخص برای انتخاب توالی راهنمای مناسب، هیدروفوبیسیته است که شامل شاخص آلیفاتیک، GRAVY و طول ناحیه‌ی h است. از این رو، رتبه‌بندی داده‌های مربوط به آن‌ها در کنار شاخص‌های مهم دیگری نظیر D-score، امکان مقایسه‌ی مناسب آن‌ها را فراهم می‌کند.

نتایج پیش‌بینی قابلیت حل شدن نشان داد که hGH متصل به همه‌ی توالی‌های راهنمای منتخب، نامحلول است. این یافته، با توجه به ماهیت توالی اسیدآمینه‌ی hGH قابل انتظار و در تأیید نتایج حاصل از مطالعه‌ی قبلی ارزیابی توالی‌های راهنما در اتصال با هورمون رشد انسانی که به صورت نامحلول پیش‌بینی شدند بود (۷).

در مطالعه‌ی میرحسینی و همکاران، از این پایگاه داده برای پیش‌بینی جایگاه برش توالی‌های راهنمای پروتئین ایتروفرون بتای انسانی استفاده شد. توالی‌های راهنمایی که واجد شرایط لازم برای ادامه‌ی بررسی بودند، حفظ و باقی توالی‌های راهنما حذف شدند (۱۹). طول توالی‌های راهنمای انسانی که در این تحقیق بررسی شدند، در محدوده‌ی ۳۶-۱۶ آمینواسید قرار داشتند. همچنین، مقدار GRAVY که حاصل جمع مقادیر هیدروپاتی همه‌ی آمینواسیدها تقسیم بر تعداد اسیدآمینه در توالی است، برای توالی‌های راهنمای مختلف محاسبه شد (۲۰).

ویژگی‌هایی نظیر بار خالص و pH ایزوالکتریک توالی‌های راهنمای منتخب نیز توسط ابزار Protein property calculator سایت Genescript بررسی شدند. بار خالص توالی‌های راهنمای ارزیابی شده، در محدوده‌ی ۱/۰۰- برای RLN3 تا ۶/۰۰ برای KL متغیر بود.

مطالعات قبلی پیشنهاد نمودند که با افزایش سطوح هیدروفوبیسیته (Hydrophobicity) و طول ناحیه‌ی h نرخ ترشح پروتئین بهبود می‌یابد (۲۱). شاخص آلیفاتیک، عامل نشان دهنده‌ی مقدار آب‌گریزی توالی مورد بررسی است و با استفاده از حجم نسبی اشغال شده توسط زنجیره‌های جانبی آلیفاتیک اسیدهای آمینه‌ی آلانین، لوسین، ایزولوسین و والین در توالی آمینواسیدی مورد نظر، تعریف می‌شود. همچنین، این

هورمون جهت افزایش ترشح آن به فضای پری‌پلاسمیک انتخاب شدند. این توالی‌های راهنمای منتخب، همگی منشأ پروکاریوتی داشتند (۷). نتیجه‌گیری نهایی این که مطالعه‌ای اختصاصی بر روی توالی‌های راهنما با منشأ انسانی جهت به کارگیری در تولید پری‌پلاسمیک هورمون رشد انسانی نوترکیب در *E. coli* و ارزیابی کارایی و بازده احتمالی آن انجام نشده بود. به دلیل زمان‌بر و پرهزینه بودن مطالعات تجربی هر یک از این توالی‌های راهنما با منشأ انسانی، از ابزارهای بیوانفورماتیکی متعدد و معتبر برای ارزیابی آن‌ها به صورت فیوژن استفاده شد که علاوه بر کاهش زمان و هزینه‌ها، افزایش دقت پژوهش‌های تجربی را نیز در پی دارد. نتایج نشان می‌دهند که از لحاظ تئوری، امکان به کارگیری توالی‌های راهنمای جدید با پتانسیل بهتر در مطالعات تجربی مرتبط با بیان پروتئین در میزبان‌های بیانی وجود دارد. همچنین، پیش‌بینی می‌شود نتایج این تحقیق بتواند روند پژوهش‌ها را در حوزه‌های مرتبط با بیان ترشحی انواع پروتئین‌های دارویی تسریع کند و حتی برای سایر پروتئین‌ها و توالی‌های راهنما با بازده بالایی مورد استفاده قرار گیرد. بر اساس نتایج به دست آمده، توالی‌های راهنمای مناسب به صورت فیوژن با پروتئین هورمون رشد انسانی که به صورت تئوری از پتانسیل و قابلیت بیان بهتری برخوردار بودند، به ترتیب فسفو پروتئین بزاقی غنی شده با پرولین (PRH1)، پروتئین ترشح شده‌ی C10orf99 و پپتید رها کننده‌ی پرولاکتین (PRLH) هستند. مطالعات آزمایشگاهی بیشتر در آینده، می‌تواند نتایج بیوانفورماتیکی این تحقیق را ارزیابی و بررسی نماید و با به کارگیری توالی‌های راهنمای تأیید شده در آزمایش‌های تجربی بعدی، دقت و صحت نتایج حاصل از مطالعه‌ی *In silico* مورد بررسی و کاوش دقیق‌تر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد ژنتیک مولکولی در دانشگاه گیلان می‌باشد.

در پیش‌بینی قابلیت ترشحی، مقادیر بالاتر از ۰/۵ به معنی وجود قابلیت ترشح برای پروتئین مورد نظر است (۱۳). در این پژوهش، فعالیت ترشحی تعداد ۱۶ توالی راهنمای حاصل از گزینش بر اساس امتیاز شاخص آلیفاتیک، توسط پایگاه داده‌ی SecretomeP ارزیابی شد. بیشینه و کمینه‌ی این شاخص در محدوده‌ی ۰/۹۲۹-۰/۸۰۳ قرار داشت (جدول ۴). نتایج این تجزیه و تحلیل نشان داد که تمامی ۱۶ توالی راهنمای منتخب، دارای میزان مناسب قابلیت ترشح پروتئین هستند. نتایج پیش‌بینی مکانیسم انتقال پروتئین ترشحی نشان داد که ۴ توالی راهنما از نوع تراغشایی (trans-membrane یا TM) و فاقد قابلیت ترشح به فضای پری‌پلاسمیک بودند (جدول ۴). همچنین، این نتایج نشان دادند که هیچ کدام از توالی‌های راهنما از نوع Tat نبودند؛ چرا که ساز و کار Tat نیازمند داشتن موتیفی با ۲ عدد Arg، طولانی‌ترین ناحیه‌ی n و ناحیه‌ی h آب‌گریز کوتاه‌تر در مقایسه با سایر توالی‌های راهنما است (۲۴). نتایج این ارزیابی نشان داد که بقیه‌ی توالی‌های راهنما از نوع ترشحی Sec بودند و اغلب دارای درصد اطمینان بالاتر از ۹۰ درصد بودند. این نتایج، بیانگر احتمال ترشح بسیار بالای آن‌ها در *E. coli* بود.

نتایج این مطالعه نشان دادند که سه توالی راهنمای PRH1 subfamily 1 (PRH1) Proline rich protein HaeIII و C10orf99 (PRLH) Prolactin-releasing hormone و C10orf99 مقایسه با سایر توالی‌های راهنمای بررسی شده در اتصال با هورمون رشد انسانی، پتانسیل ترشحی بهتری در *E. coli* دارند. همچنین، از بررسی نتایج استنباط شد که توالی راهنمای LEAP2 با وجود داشتن ویژگی‌های مناسب نظیر شاخص آلیفاتیک بالا، به دلیل ساز و کار ترشحی از نوع تراغشایی، فاقد قابلیت ترشح به فضای پری‌پلاسمیک است. در نتیجه، از دیدگاه تئوری، برای بیان ترشحی هورمون رشد در *E. coli* مناسب نمی‌باشد و فاقد پتانسیل لازم برای استفاده در *E. coli* است. در مطالعه‌ی قبلی که توالی‌های راهنمای مختلف پروکاریوتی در اتصال با هورمون رشد انسانی بررسی شدند، در نهایت، ۳ توالی راهنما به عنوان بهترین توالی‌های راهنما در اتصال با این

References

1. Reh CS, Geffner ME. Somatotropin in the treatment of growth hormone deficiency and Turner syndrome in pediatric patients: A review. *Clin Pharmacol* 2010; 2: 111-22.
2. Franklin SL, Geffner ME. Growth hormone: the expansion of available products and indications. *Pediatr Clin North Am* 2011; 58(5): 1141-65, x.
3. Kim MJ, Park HS, Seo KH, Yang HJ, Kim SK, Choi JH. Complete solubilization and purification of recombinant human growth hormone produced in *Escherichia coli*. *PLoS One* 2013; 8(2): e56168.
4. Yoon SH, Kim SK, Kim JF. Secretory production of recombinant proteins in *Escherichia coli*. *Recent Pat Biotechnol* 2010; 4(1): 23-9.
5. Thanassi DG, Hultgren SJ. Multiple pathways allow protein secretion across the bacterial outer membrane. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12(4): 420-30.
6. Sockolosky JT, Szoka FC. Periplasmic production via the pET expression system of soluble, bioactive human growth hormone. *Protein Expr Purif* 2013; 87(2): 129-35.
7. Zamani M, Nezafat N, Negahdaripour M, Dabbagh F,

- Ghasemi Y. In silico evaluation of different signal peptides for the secretory production of human growth hormone in *E. coli*. *Int J Pept Res Ther* 2015; 21(3): 261-8.
8. Bendtsen JD, Nielsen H, von Heijne G, Brunak S. Improved prediction of signal peptides: SignalP 3.0. *J Mol Biol* 2004; 340(4): 783-95.
 9. Petersen TN, Brunak S, von Heijne G, Nielsen H. SignalP 4.0: Discriminating signal peptides from transmembrane regions. *Nat Methods* 2011; 8(10): 785-6.
 10. Emanuelsson O, Brunak S, von Heijne G, Nielsen H. Locating proteins in the cell using TargetP, SignalP and related tools. *Nat Protoc* 2007; 2(4): 953-71.
 11. Garcia dIT, Carrasco B, Harding SE. SOLPRO: Theory and computer program for the prediction of SOLution PROPERTIES of rigid macromolecules and bioparticles. *Eur Biophys J* 1997; 25(5-6): 361-72.
 12. Magnan CN, Randall A, Baldi P. SOLpro: Accurate sequence-based prediction of protein solubility. *Bioinformatics* 2009; 25(17): 2200-7.
 13. Bendtsen JD, Jensen LJ, Blom N, von HG, Brunak S. Feature-based prediction of non-classical and leaderless protein secretion. *Protein Eng Des Sel* 2004; 17(4): 349-56.
 14. Bagos PG, Nikolaou EP, Liakopoulos TD, Tsigirios KD. Combined prediction of Tat and Sec signal peptides with hidden Markov models. *Bioinformatics* 2010; 26(22): 2811-7.
 15. Baneyx F, Mujacic M. Recombinant protein folding and misfolding in *Escherichia coli*. *Nat Biotechnol* 2004; 22(11): 1399-408.
 16. Baradaran A, Sieo CC, Foo HL, Ilias RM, Yusoff K, Rahim RA. Cloning and in silico characterization of two signal peptides from *Pediococcus pentosaceus* and their function for the secretion of heterologous protein in *Lactococcus lactis*. *Biotechnol Lett* 2013; 35(2): 233-8.
 17. Choi JH, Lee SY. Secretory and extracellular production of recombinant proteins using *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2004; 64(5): 625-35.
 18. Xiong E, Zheng C, Wu X, Wang W. Protein subcellular location: The gap between prediction and experimentation. *Plant Mol Biol Rep* 2016; 34(1): 52-61.
 19. Mirhoseini Z, Pezeshkian Z, Ghovvati S. Phylogenetic and in silico analysis of interferon beta-1b protein. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2017; 26(145): 70-82. [In Persian].
 20. Kyte J, Doolittle RF. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J Mol Biol* 1982; 157(1): 105-32.
 21. Chen H, Kim J, Kendall DA. Competition between functional signal peptides demonstrates variation in affinity for the secretion pathway. *J Bacteriol* 1996; 178(23): 6658-64.
 22. Ikai A. Thermostability and aliphatic index of globular proteins. *J Biochem* 1980; 88(6): 1895-8.
 23. Guruprasad K, Reddy BV, Pandit MW. Correlation between stability of a protein and its dipeptide composition: A novel approach for predicting in vivo stability of a protein from its primary sequence. *Protein Eng* 1990; 4(2): 155-61.
 24. Hinsley AP, Stanley NR, Palmer T, Berks BC. A naturally occurring bacterial Tat signal peptide lacking one of the 'invariant' arginine residues of the consensus targeting motif. *FEBS Lett* 2001; 497(1): 45-9.

A Comprehensive Bioinformatic Assessment of Different Signal Peptides for Secretory Expression of Human Growth Hormone in Escherichia Coli: An in Silico Study

Aref Doozandeh-Juibari¹, Hamid Reza Vaziri², Shahrokh Ghovvati³, Mohammad Mahdi Sohani⁴

Original Article

Abstract

Background: Nowadays, by genetic engineering and bioinformatics, large scale production of pharmacological recombinant proteins in Escherichia coli (E. coli) bacteria, which has unique expression properties, becomes a routine and economic imperative. In this study, periplasmic production of human growth hormone was investigated using bioinformatics methods.

Methods: The aim of this study was bioinformatic evaluation of 48 human signal peptides by reliable servers for expression analysis of human growth hormone in Escherichia coli. Accuracy and precision of 48 signal peptides were evaluated via powerful SignalP server. Physicochemical properties of remaining signal peptides were investigated using Genescript and ProtParam servers. Solubility of protein, secretory activity of signal peptides after expression, and transmission mechanism of signal peptides were investigated using Solpro, ProtCompB and PRED-TAT, respectively.

Findings: Theoretically, proline rich protein HaeIII subfamily 1 (PRH1), C10orf99, and prolactin-releasing hormone (PRLH) signal peptides were predicted as the most proper signal peptides in fusion of human growth hormone protein, respectively.

Conclusion: Secretory expression instead of cytoplasmic expression provides benefits. This study results indicated that by examining different signal peptide sequences in fusion with human growth hormone protein, achieving signal peptides with potential and capability for high expression is possible. The accuracy of these results can be verified in future studies and experiments.

Keywords: Escherichia coli, Human growth hormone, Periplasm, Bioinformatics

Citation: Doozandeh-Juibari A, Vaziri HR, Ghovvati S, Sohani MM. A Comprehensive Bioinformatic Assessment of Different Signal Peptides for Secretory Expression of Human Growth Hormone in Escherichia Coli: An in Silico Study. J Isfahan Med Sch 2017; 35(440): 890-9.

1- MSc Student, Department of Molecular Cell Biology, School of Applied Science, University of Guilan, Rasht, Iran

2- Associate Professor, Department of Molecular Cell Biology, School of Applied Science, University of Guilan, Rasht, Iran

3- Assistant Professor, Department of Biotechnology, School of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran

4- Associate Professor, Department of Biotechnology, School of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran

Corresponding Author: Shahrokh Ghovvati, Email: ghovvati@guilan.ac.ir

ارزیابی میزان خطای محاسبات دز سیستم طراحی درمان در ریه هنگام درمان با الکترون به روش (3D-CRT) Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy

محمدباقر توکلی^۱، حسین طاهری^۲، علی اخوان^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: محاسبات دقیق دز در نواحی ناهمگن بدن مانند ریه، می‌تواند برای سیستم‌های طراحی درمان پیچیده باشد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی میزان خطای سیستم طراحی درمان (Treatment planning system یا TPS) از نوع Targeted Image-Guided Radiation Therapy (TiGRT TPS) در محاسبه‌ی توزیع دز الکترون‌ها در بافت ریه هنگام درمان با الکترون به روش 3-dimensional conformal radiation therapy (3D-CRT) بود.

روش‌ها: تکنیک تابش مستقیم الکترون با انرژی ۱۰ مگاالکترون‌ولت، با استفاده از TPS بر روی تصاویر Computed tomography scan (CT scan) فانتوم Rando اجرا شد. سپس، فانتوم مطابق با تکنیک مورد نظر با دستگاه Siemens Primus تحت تابش قرار گرفت. اندازه‌گیری دز با استفاده از دزیمترهای ترمولومینسانس (Thermo luminescent dosimeter-100 یا TLD-100) در ریه انجام شد. سپس، مقادیر دز محاسبه شده با TPS و نتایج حاصل از اندازه‌گیری با هم مقایسه شد.

یافته‌ها: کمینه و بیشینه‌ی درصد خطای محاسبات توزیع دز توسط TPS در مقایسه با مقادیر مربوط به اندازه‌گیری‌های انجام شده، به ترتیب در مرز بین دیواره‌ی قفسه‌ی سینه - ریه (۰/۸۶ درصد) و انتهای ریه (۷۶/۱۴ درصد) رخ داد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد TPS قادر به اجرای برخی از تصحیحات مربوط به ناهمگنی‌ها هنگام الکترون‌درمانی نیست. در این مطالعه، ناهمگنی‌ها شامل استخوان‌های دنده و بافت ریه بود. خطاهای محاسبه شده، ممکن است در نتیجه‌ی در نظر نگرفتن تولید پرتوهای ثانویه و پراکندگی متعدد الکترون‌ها هنگام برخورد الکترون با استخوان‌های دنده و همچنین، آلودگی به پرتوی ایکس در انتهای برد الکترون‌ها باشد. بنابراین، محاسبات توزیع دز پرتوهای الکترونی که توسط TPS در بافت ریه انجام شد، با عدم قطعیت همراه است.

واژگان کلیدی: ریه، دز رادیوتراپی، برنامه‌ی درمان، فانتوم

ارجاع: توکلی محمدباقر، طاهری حسین، اخوان علی. ارزیابی میزان خطای محاسبات دز سیستم طراحی درمان در ریه هنگام درمان با الکترون به روش (3D-CRT) Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۰): ۹۰۴-۹۰۰.

مقدمه

سرطان، یکی از بیماری‌های شایع در سرتاسر جهان است (۱). یکی از روش‌های درمان سرطان‌ها پرتودرمانی است که مهم‌ترین هدف آن رساندن دز بیشینه به بافت تومورال و تحمیل کمترین آسیب به اعضای در معرض خطر (Organs at risk یا OAR) است (۲). در نتیجه، تعیین دز پرتوهای تحمیل شده به اعضای در معرض خطر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۳-۴).

در مراکز پرتودرمانی، برای محاسبه‌ی توزیع دز به بافت‌های مورد نظر، از سیستم طراحی درمان (Treatment planning system یا TPS) استفاده می‌شود. طبق توصیه‌ی کمیسیون بین‌المللی واحدها و اندازه‌گیری (International Commission on Radiation Unit یا ICRU)، خطای محاسبه‌ی دز نباید بیش از $\pm 5\%$ درصد باشد (۵-۶). به دلیل استفاده‌ی گسترده از سیستم‌های طراحی درمان، تضمین کیفیت (Quality assurance یا QA) این نرم‌افزارها امری اجتناب

۱- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استادیار، گروه رادیوتراپی آنکولوژی، بیمارستان سیدالشهدا (ع)، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

جدول ۱. برخی از ویژگی‌های

LiF: Mg, Ti (TLD) Thermo luminescent dosimeter

چگالی جرمی	۲/۶۴ گرم/سانتی‌متر مکعب
نقطه‌ی ذوب	۸۴۶ درجه‌ی سانتی‌گراد
عدد اتمی مؤثر	۸/۲
شکاف انرژی	۱۰ الکترون‌ولت

برای کالیبراسیون فردی و گروهی، TLDها در زیر ماده‌ی معادل بافت (Plexiglas) قرار گرفتند و سپس با استفاده از پرتوهای الکترونی ۱۰ مگاالکترون‌ولت دستگاه Siemens Primus تحت تابش قرار گرفتند. برای انجام کالیبراسیون گروهی، دزیمترها به گروه‌های مختلف تقسیم شدند. گروه اول، تحت تابش قرار نگرفت و مقادیر دز زمینه اندازه‌گیری شد. سپس، هر کدام از گروه‌های بعدی تحت تابش مقدار معینی دز قرار گرفتند و اعداد کالیبراسیون گروهی برای هر گروه مشخص شد. برای اندازه‌گیری دز تحمیلی به ریه، دزیمترها درون سوراخ‌هایی به قطر ۳ میلی‌متر به گونه‌ای در نقاط مختلف قرار گرفتند که روی سوراخ‌ها با ماده‌ی معادل بافت پوشانده شده بود. آزمون‌های اندازه‌گیری، در ۳ مرحله و به طور مستقل تکرار شدند و میزان انحراف معیار ۲/۷-۲/۰ برای خوانش TLDها از دستگاه (SOLARO-2A (NEC Technology) استفاده شد. پس از آن، با استفاده از رابطه‌ی زیر، مقدار خطای TPS محاسبه شد.

$$[\%]Error = [(Dcalc - Dmeas) / Dmeas,ref] \times 100$$

در این رابطه، Dcalc مقدار دز محاسبه شده با TPS و Dmeas مقدار دز اندازه‌گیری شده با TLD است.

یافته‌ها

جدول ۲، نتایج حاصل از محاسبات TPS و مقادیر اندازه‌گیری شده با TLD را نشان می‌دهد. کمینه و بیشینه‌ی درصد خطای محاسبات توزیع دز توسط TPS به ترتیب در مرز بین دیواره‌ی قفسه‌ی سینه و ریه (۰/۸۶ درصد) و انتهای ریه (۷۶/۱۴ درصد) رخ داد (جدول ۲). شکل ۱، مقادیر درصد دز عمقی محاسبه شده توسط TPS و اندازه‌گیری شده توسط TLD را مورد مقایسه قرار می‌دهد. طبق جدول ۲ و شکل ۱، بر خلاف محاسبات TPS، مقادیر اندازه‌گیری شده توسط TLD روند افزایش دز پس از مرز بین دیواره‌ی قفسه‌ی سینه و ریه را نشان داد. همچنین، با افزایش عمق ریه، درصد دز پرتوهای الکترونی کاهش می‌یابد، اما محاسبات TPS کاهش دز سریع‌تری نسبت به مقادیر اندازه‌گیری شده نشان داد.

ناپذیر است (۵). محاسبه‌ی توزیع دز هنگام وجود لبه‌ها و بافت‌های ناهمگن در حجم درمان، یک چالش بزرگ برای برخی از سیستم‌های طراحی درمان است. مطالعات متعددی در مورد بررسی میزان خطای محاسبات توزیع دز توسط TPS انجام شده است (۷-۹).

این مطالعه با هدف ارزیابی میزان خطای سیستم طراحی درمان محاسبه‌ی توزیع دز پرتوهای الکترونی در بافت ناهمگن ریه هنگام درمان با الکترون به روش 3-dimensional conformal radiation therapy (3D-CRT) انجام شد.

روش‌ها

در این مطالعه، از یک فانتوم انسان‌نمای (Anthropomorphic) Rando، که در گروه فیزیک پزشکی ساخته شده بود، استفاده شد. این فانتوم، دارای ۲۵ سانتی‌متر طول، ۳۰ سانتی‌متر عرض و ۲۰ سانتی‌متر ضخامت بود. برای ساخت این فانتوم، از ماده‌ی معادل بافت (Plexiglas) استفاده شد. این فانتوم، بیضوی شکل و نشان دهنده‌ی شمای کلی دیواره‌ی قفسه‌ی سینه بود. برای ایجاد ناهمگنی‌هایی همچون ریه‌ها و استخوان‌های دنده، به ترتیب از کرک (Cork) و تفلون (Teflon) در ساخت فانتوم استفاده شد. ضخامت دیواره‌ی قفسه‌ی سینه‌ی این فانتوم ۲ سانتی‌متر بود. از این فانتوم، Computed tomography scan (CT scan) اسکن گرفته شد و با استفاده از TPS (TiGRT, Lina Tech, China)، تکنیک تابش مستقیم پرتوی الکترونی اجرا شد.

در این تکنیک، حجم هدف بالینی (Clinical Target Volume) یا CTV شامل دیواره‌ی قفسه‌ی سینه، غده‌های فوق ترقوه‌ای (Supraclavicular nodes)، غده‌های سینه‌ای داخلی (Internal mammary nodes) و سه ناحیه‌ی زیر بغل (Axilla) بود. برای تابش‌دهی فانتوم، از پرتوهای الکترونی ۱۰ مگاالکترون‌ولت دستگاه شتاب دهنده‌ی خطی Siemens Primus استفاده شد. TPS مورد نظر بر اساس داده‌های حاصل از این دستگاه شتاب دهنده‌ی خطی تنظیم شد.

دز تجویزی ۲۰۰ سانتی‌گری، اندازه‌ی میدان ۱۵ × ۲۰ سانتی‌متر مربع و Source to surface distance (SSD) برابر ۱۰۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

آزمون اندازه‌گیری به کمک دزیمترهای ترمولومینسانس (Thermo luminescent dosimeter-100 یا TLD-100) (LiF: Mg, Ti) انجام شد. برخی از ویژگی‌های این دزیمتر در جدول ۱ آمده است.

جدول ۲. مقایسه‌ی نتایج حاصل از محاسبات TPS و اندازه‌گیری‌های انجام شده توسط LiF (TLD-100) Thermo luminescent dosimeter-100. بر حسب درصد دز تجویز شده (۲۰۰ سانتی‌گری)

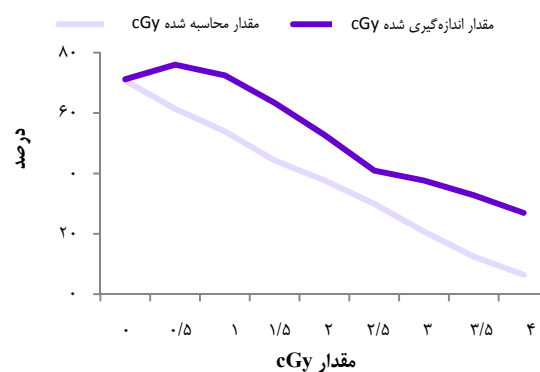
ضخامت ریه پس از مرز بین دیواره‌ی قفسه‌ی سینه و ریه (cm)	مقادیر محاسبه شده با TPS	میانه \pm انحراف معیار مقادیر اندازه‌گیری شده با TLD	میزان خطا (درصد)	پذیرش / عدم پذیرش
۰	۷۰/۶۳۰	۷۱/۲۳۰ \pm ۰/۰۲۷	۰/۸۴	پذیرش
۰/۵	۶۱/۳۷۰	۷۶/۰۵۰ \pm ۰/۰۱۲	۱۹/۳۰	عدم پذیرش
۱/۰	۵۳/۹۴۰	۷۲/۴۸۰ \pm ۰/۰۳۵	۲۵/۵۷	عدم پذیرش
۱/۵	۴۴/۲۶۰	۶۳/۳۷۰ \pm ۰/۰۱۵	۳۰/۱۵	عدم پذیرش
۲/۰	۳۷/۶۹۰	۵۲/۷۶۰ \pm ۰/۰۱۳	۲۸/۵۶	عدم پذیرش
۲/۵	۲۹/۹۱۰	۴۰/۹۳۰ \pm ۰/۰۴۵	۲۶/۹۲	عدم پذیرش
۳/۰	۲۰/۷۴۰	۳۷/۶۵۰ \pm ۰/۰۲۳	۴۴/۹۱	عدم پذیرش
۳/۵	۱۲/۳۸۰	۳۶/۷۲۰ \pm ۰/۰۴۱	۶۲/۲۱	عدم پذیرش
۴/۰	۶/۴۳۰	۲۶/۹۵۰ \pm ۰/۰۲۹	۷۶/۱۴	عدم پذیرش

TPS: Treatment planning system; TLD: Thermo luminescent dosimeter

الکترونی در عمق ریه عبارت از استخوان‌های دنده (که در فصل مشترک ریه و دیواره‌ی قفسه‌ی سینه قرار دارند) و ریه می‌باشند. همان‌گونه که در جدول ۲ آمده است، میزان دز در ۱ سانتی‌متری ابتدای ریه افزایش یافت، اما محاسبات TPS روند کاهشی در توزیع دز را نشان دادند. افزایش دز عمقی در ابتدای ریه، ممکن است ناشی از تولید پرتوهای ثانویه در اثر برخورد الکترون‌ها به استخوان‌های دنده (لبه‌ی ناهمگن) و همچنین، تغییرات پراکندگی جانبی الکترون‌ها در اثر این ناهمگنی باشد.

پس از این ناحیه، مقادیر حاصل از محاسبات TPS و اندازه‌گیری‌های انجام شده، هر دو بیانگر کاهش سریع دز عمقی بودند، اما محاسبات TPS و نتایج حاصل از اندازه‌گیری، اختلاف چشم‌گیری داشتند. این بدان معنی است که محاسبات TPS افت دز سریع‌تری نسبت به نتایج حاصل از اندازه‌گیری نشان داد (شکل ۱). یکی از ویژگی‌های مهم الکترون‌ها، افت سریع دز پس از ناحیه‌ی انباشتگی (Build up) است (۲)، اما ممکن است در TPS بعضی از تصحیحات اجرا نشده باشد. هنگامی که الکترون‌ها از درون ماده‌ای عبور می‌کنند، متحمل پراکندگی‌های متعددی می‌شوند (۲). به علاوه، ریه بافتی ناهمگن با چگالی کم الکترونی است و به همین دلیل، توزیع دز پرتوهای الکترونی می‌تواند به طور قابل توجهی تغییر کند (۲). در واقع، چگالی کم بافت ریه، باعث افزایش نفوذ پرتو و در نتیجه، افزایش دز ریه می‌شود.

مطابق با داده‌های جدول ۲ و شکل ۱، در انتهای ریه محاسبات TPS با نتایج حاصل از اندازه‌گیری اختلاف بیشتری نشان دادند که ممکن است به دلیل وجود آلودگی به پرتوی ایکس در انتهای برد الکترون‌ها باشد (۲).



شکل ۱. نمودار درصد دز عمقی محاسبه شده توسط سیستم طراحی درمان و اندازه‌گیری شده توسط Thermo luminescent dosimeter (TLD) در ریه

بحث

وجود ناهمگنی در حجم درمان، تأثیر به‌سزایی بر توزیع دز الکترون دارد و به همین دلیل، لازم است هنگام درمان با پرتوهای الکترونی، تصحیحات لازم به‌ویژه در مورد نحوه‌ی پراکندگی الکترون‌ها انجام شود (۱۲-۱۰). هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی صحت محاسبات انجام شده توسط TPS در بافت ناهمگن ریه، هنگام درمان دیواره‌ی قفسه‌ی سینه با پرتوهای الکترونی بود.

مطابق با جدول ۲، محاسبه‌ی انجام شده توسط TPS در مرز دیواره‌ی قفسه‌ی سینه و ریه، اختلاف چندانی با مقدار اندازه‌گیری شده نشان نمی‌دهد، اما نتایج نشان دادند که با عبور الکترون‌ها در عمق ریه، میزان محاسبات انجام شده توسط TPS با مقادیر حاصل از اندازه‌گیری اختلاف بیشتری نشان می‌دهند. ناهمگنی‌های موجود هنگام عبور پرتوی

تشریح و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد فیزیک پزشکی به شماره‌ی طرح ۳۹۵۰۵۸ است. برای انجام این مطالعه از منابع مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان استفاده شد. در پایان، از کارکنان بخش پرتودرمانی بیمارستان سیدالشهدای (ع) اصفهان و کلیه‌ی عزیزانی که در انجام این تحقیق ما را یاری کردند، سپاسگزاری می‌گردد.

نتایج حاصل از این مطالعه، با نتایج مطالعات دیگر (۱۳، ۸-۷) هم‌سویی داشت. مطالعه‌ی محمودی و همکاران (۱۳) این نتیجه را تأیید می‌کند که در صورت وجود ناهمگنی‌ها، سیستم طراحی درمان دز نواحی خارج از میدان را کمتر از مقدار واقعی (۱۰۰-۶ درصد) تخمین می‌زند. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که هنگام الکترون درمانی دیواره‌ی قفسه‌ی سینه، به دلیل وجود ناهمگنی‌هایی نظیر استخوان‌های دنده و ریه، محاسبات توزیع دز TPS از دقت کافی برخوردار نیست و با عدم قطعیت قابل توجهی همراه است.

References

1. Shahbazi-Gahrouei D. Radiobiological modeling in radiation oncology. *J Radiobiol* 2014;1(1):17-8.
2. Khan FM, Gibbons JP. Khan's the physics of radiation therapy. 5th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2014.
3. Shahbazi-Gahrouei D, Gookizadeh A, Abdollahi M. Comparison of conventional radiotherapy techniques with different energies in treating prostate cancer, employing a designed pelvis phantom. *J Med Sci* 2008; 8(4): 429-32.
4. Rutonjski L, Petrovic B, Baucal M, Teodorovic M, Cudic O, Gershkevitch E, et al. Dosimetric verification of radiotherapy treatment planning systems in Serbia: National audit. *Radiation Oncology* 2012; 7: 155.
5. Khosravi M, Shahbazi-Gahrouei D, Jabbari K, Nasri-Nasrabadi M, Baradaran-Ghahfarokhi M, Siavashpour Z, et al. Photoneutron contamination from an 18 MV Saturne medical linear accelerator in the treatment room. *Radiat Prot Dosimetry* 2013; 156(3): 356-63.
6. Rezaee V, Shahbazi-Gahrouei D, Monadi S, Saeb M. Evaluation of error doses of treatment planning software using solid anthropomorphic phantom. *J Isfahan Med Sch* 2016; 34(393): 908-13. [In Persian].
7. Mesbahi A, Dadgar H, Ghareh-Aghaji N, Mohammadzadeh M. A Monte Carlo approach to lung dose calculation in small fields used in intensity modulated radiation therapy and stereotactic body radiation therapy. *J Cancer Res Ther* 2014; 10(4): 896-902.
8. Jang SY, Liu HH, Wang X, Vassiliev ON, Siebers JV, Dong L, et al. Dosimetric verification for intensity-modulated radiotherapy of thoracic cancers using experimental and Monte Carlo approaches. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 66(3): 939-48.
9. Chow JC, Wong E, Chen JZ, Van DJ. Comparison of dose calculation algorithms with Monte Carlo methods for photon arcs. *Med Phys* 2003; 30(10): 2686-94.
10. Ekstrand KE, Barnes WH. Pitfalls in the use of high energy X rays to treat tumors in the lung. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1990; 18(1): 249-52.
11. Hunt MA, Desobry GE, Fowble B, Coia LR. Effect of low-density lateral interfaces on soft-tissue doses. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997; 37(2): 475-82.
12. White PJ, Zwicker RD, Huang DT. Comparison of dose homogeneity effects due to electron equilibrium loss in lung for 6 MV and 18 MV photons. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996; 34(5): 1141-6.
13. Mahmoodi G, Shokrani P, Amo Heidari A, Atared M, Hosseinzade A. An investigation of dosedistribution calculation accuracy in match photon-electron radiation therapy for malignant pleural mesothelioma by Monte Carlo simulation. *J Sabzevar Univ Med Sci* 2015; 22(3): 397-409. [In Persian].

Evaluation of Calculation Errors of Treatment Planning System in Dose Distribution of Electron Beams inside the Lung in Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy (3D-CRT)

Mohammad Bagher Tavakoli¹, Hossein Taheri², Ali Akhavan³

Original Article

Abstract

Background: Calculation of dose distribution of electron beams within in homogeneities may be complex for some of treatment planning systems (TPS). The aim of this study was to investigate the calculation errors of targeted image-guided radiation therapy treatment planning systems (TiGRT TPS) for dose distribution of electron beams within lung.

Methods: The computed tomography (CT) images of an anthropomorphic Rando phantom were imported on the treatment planning systems (TiGRT, Lina Tech, China). The direct 10 MeV electron plan was performed by the TiGRT treatment planning systems. According to the plan, the phantom was irradiated using 10 MeV electrons of Siemens Primus linac. Dose measurements were done using LiF (TLD-100) inside the lung of this phantom. Finally, the calculation of the treatment planning systems was compared to the dose measurements.

Findings: The minimum (0.86%) and maximum (76.14%) calculation errors of the treatment planning systems were occurred on the chest wall-lung interface and at the end of lung, respectively.

Conclusion: It considerably seems that the treatment planning systems may not be able to perform some of essential corrections for dose distribution of electrons within in homogeneities. In this study, the in-homogeneities included ribs and lung with low electron density. The calculation errors may be resulted from production of secondary beams and multi scattering of electrons (when the electrons incident to ribs), and also X-ray contamination of electron beams at the end of its path. Therefore, the calculation of the treatment planning systems for dose distribution of electron beams within the lung is not comfortable.

Keywords: Lung, Radiotherapy dosage, Treatment protocols, Phantoms

Citation: Tavakoli MB, Taheri H, Akhavan A. Evaluation of Calculation Errors of Treatment Planning System in Dose Distribution of Electron Beams of 3D-CRT inside the Lung. J Isfahan Med Sch 2017; 35(440): 900-4.

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

2- MSc Student, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Assistance Professor, Department of Radiotherapy Oncology, Seyed Alshohada Hospital, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Hossein Taheri, Email: h.taheri@resident.mui.ac.ir

فراوانی تداخلات دارویی در بیماران بخش‌های مراقبت‌های ویژه بیمارستان الزهراء (س) اصفهان

پرویز کاشفی^۱، سارا موسوی^۲، علی حسینی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: میزان مرگ و میر در بیماران با تداخلات دارویی در حال افزایش می‌باشد. بیماران بخش‌های مراقبت‌های ویژه، به دلایل گوناگون شامل اختلال جذب، متابولیسم کاهش یافته و نارسایی کلیه که در این بیماران شایع است، در معرض خطر تداخلات دارویی می‌باشند. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی فراوانی تداخلات دارویی در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی گذشته‌نگر، دستورهای دارویی ۱۹۵ بیمار بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه بیمارستان الزهراء (س) اصفهان بررسی شدند. تداخلات دارویی با استفاده از نرم‌افزار Lexi-Comp on Desktop و کتاب Drug Interaction Facts تعیین شدند. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

یافته‌ها: فراوانی و میانگین تداخلات دارویی به ترتیب ۸۸/۲ درصد و $۹/۸۸ \pm ۱۰/۴۹$ بودند. ارتباطات معنی‌داری بین تعداد تداخلات دارویی و سن، مدت بستری در بیمارستان، و تعداد داروهای تجویز شده و پزشکان وجود داشت ($P < ۰/۰۱$). میانگین تداخلات دارویی خفیف، متوسط و شدید در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه، به ترتیب $۲/۱۶ \pm ۱/۶۳$ ، $۷/۸۰ \pm ۸/۰۵$ و $۰/۰۱ \pm ۰/۸۱$ بود.

نتیجه‌گیری: تداخلات دارویی مهم به عنوان خطرهای احتمالی سلامت در بیماران بخش‌های مراقبت‌های ویژه شایع بودند. تعیین تداخلات دارویی، جایگزین کردن داروی تداخل کننده با سایر داروها در حد امکان، هشدار دادن در مورد داروهای به شدت تداخل کننده و کاهش تعداد داروهای تجویز شده، می‌تواند تعداد تداخلات دارویی بالقوه را کاهش دهد و عوارض جانبی ناشی از آن‌ها را به حداقل برساند.

واژگان کلیدی: تداخل دارویی، بخش مراقبت‌های ویژه، شیوع

ارجاع: کاشفی پرویز، موسوی سارا، حسینی علی. فراوانی تداخلات دارویی در بیماران بخش‌های مراقبت‌های ویژه بیمارستان الزهراء (س) اصفهان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۰): ۹۰۵-۹۱۰

مقدمه

حفظ سلامت بیمار، به عنوان یکی از اساسی‌ترین اهداف در سیستم‌های بهداشتی- درمانی مورد توجه می‌باشد و طی ده‌های اخیر نیز توجه بیشتری را به سمت خود معطوف کرده است. مطالعات صورت گرفته بر روی مراکز بهداشتی- درمانی، نشان دهنده‌ی میزان بالای خطاها و قصور پزشکی و فاصله‌ی زیاد بین وضعیت کنونی سیستم درمانی با کیفیت مطلوب و مورد هدف این سیستم می‌باشد. مواردی همچون اشتباهات دارویی، عوارض پس از مداخله‌ی درمانی و عفونت‌های بعد از اعمال جراحی، غربالگری‌های نامناسب پیش از

وقوع بیمار، مراقبت و درمان‌های نامناسب بعد از بروز حملات سکتی قلبی، همگی اثبات کننده‌ی وضعیت ضعیف سیستم درمانی از نظر بروز اشتباهات پزشکی می‌باشند (۱).

بروز اشتباه در عملکردهای انسانی، یک پدیده‌ی طبیعی تلقی می‌شود و حتی در عملکردهایی که به صورت دقیق برنامه‌ریزی شده و مورد پایش قرار گرفته‌اند نیز گاهی ممکن است خطاهایی بروز کند. یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین خطاهای موجود در عرصه‌ی اراییه‌ی خدمات بهداشتی- درمانی، خطاهای دارویی می‌باشد که خود جزء یکی از پنج دسته‌ی مهم خطاهای پزشکی صورت گرفته در نظام

۱- استاد، گروه بیهوشی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه فارماکولوژی بالینی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

با توجه به قابل پیش‌گیری بودن بسیاری از این تداخلات دارویی با استفاده از علم فارماکولوژی و با درک مکانیسم‌های ایجاد کننده این تداخلات و همچنین، به علت این که اندازه‌گیری سطح خونی بسیاری از داروها در بیماران به سادگی امکان پذیر نمی‌باشد، اهمیت پیش‌بینی و پیش‌گیری به موقع تداخلات دارویی به ویژه در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان‌ها، دو چندان می‌شود. از این رو، با توجه به این که مطالعه‌ی مشابهی به بررسی شیوع و انواع تداخلات دارویی در مراکز آموزشی- درمانی استان اصفهان نپرداخته بود، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی فراوانی تداخلات دارویی در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه‌ی مرکز آموزشی- درمانی الزهرا (س) اصفهان در نیم‌سال دوم ۱۳۹۴ انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه‌ی مقطعی (Cross-sectional) بر روی پرونده‌های ۱۹۵ بیمار بستری شده در بخش‌های مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان الزهرا (س) اصفهان از مهر تا اسفند ۱۳۹۴ صورت گرفت. جمع‌آوری اطلاعات به صورت گذشته‌نگر و تحت مدیریت بیمارستان و دانشگاه علوم پزشکی اصفهان صورت گرفت. نمونه‌گیری به صورت تصادفی ساده با استفاده از جدول اعداد تصادفی انجام شد. تعداد داروهای دریافتی که این بیماران در ۲۴ ساعت اول پس از بستری شدنشان در بخش مراقبت‌های ویژه دریافت کرده بودند، از پرونده و کاردکس بیماران استخراج گردید. همچنین، مواردی نظیر نام داروهای دریافتی و روش تجویز آن نیز به همین صورت گردآوری و در فرم‌های طراحی شده برای این مطالعه ثبت گردید. اطلاعات دموگرافیک بیماران شامل سن، جنس، طول مدت بستری و تعداد پزشکان معالج از پرونده‌ی بیمار و یا قسمت مدارک پزشکی بیمارستان الزهرا (س) دریافت و در پرسش‌نامه‌ی جمع‌آوری اطلاعات دموگرافیک ثبت گردید.

معیارهای ورود به مطالعه شامل حداقل ۵ روز بستری در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان الزهرا (س)، تجویز دارو در ۲۴ ساعت اول بستری و دریافت حداقل ۲ دارو به صورت هم‌زمان می‌باشند. معیارهای خروج از مطالعه شامل ترخیص قبل از ۲۴ ساعت، انتقال به بخش‌های دیگر و فوت در کمتر از ۲۴ ساعت از بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بودند. مطالعه‌ی حاضر، در کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب گردید. برای اجرای مطالعه، هماهنگی با ریاست بیمارستان و مسئولین بخش‌هایی که پژوهش در آن‌ها اجرا گردید، انجام شد.

جهت بررسی تداخلات دارویی، از نرم‌افزار دارویی Lexi-Comp on Desktop استفاده شد. این نرم‌افزار، به صورت

بهداشتی- درمانی آمریکا طبقه‌بندی می‌شود (۲). اشتباه در تجویز داروها به علت شیوع زیاد، خطرات احتمالی و مهم برای سلامت بیماران و رواج بیشتر آن نسبت به گذشته، امروزه به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های تعیین کننده‌ی میزان امنیت بیمار در مراکز ارایه‌ی خدمات درمانی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد (۳).

تداخل دارویی بالقوه، به وضعیتی اطلاق می‌شود که در آن احتمال می‌رود عملکرد یک دارو در اثر تجویز هم‌زمان داروی دیگر به صورت فارماکوکینتیک و یا فارماکودینامیک تحت تأثیر قرار بگیرد (۴). در تداخلات فارماکودینامیک، عملکرد اختصاصی یک دارو در اثر تجویز هم‌زمان یک و یا چند داروی دیگر دچار تغییر می‌شود؛ در حالی که در تداخلات فارماکوکینتیک، تجویز یک داروی هم‌زمان، جذب، توزیع در بدن، متابولیسم، تجزیه و دفع داروی دیگر را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۵).

مطالعات صورت گرفته در ایالات متحده‌ی آمریکا نشان می‌دهد که سالانه ۹۸۰۰۰-۴۴۰۰۰ مرگ در اثر اشتباهات پزشکی صورت می‌گیرد که ۷۰۰۰ مورد آن در اثر تداخلات دارویی و عوارض داروها رخ می‌دهد که خود پس از بیماری‌های قلبی- عروقی، دیابت و بیماری ایدز چهارمین رتبه‌ی مرگ و میر را در آمریکا به خود اختصاص می‌دهد. اشتباهات دارویی ناخواسته‌ی قابل پیش‌گیری عامل مرگ، ضررهای اقتصادی قابل توجهی را به دنبال دارد که میزان آن در آمریکا بین ۵/۶-۱/۵ بیلیون دلار تخمین زده شده است و بیشتر آن مربوط به بستری شدن در بیمارستان به علت استفاده‌ی نادرست داروها یا عدم دریافت داروی مناسب، دادن داروی نامناسب و عوارض ناخواسته‌ی دارویی است (۶).

بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه در مقایسه با بیماران بستری در بخش‌های دیگر، تعداد داروهای بیشتری را به صورت هم‌زمان که توسط یک و یا چند پزشک تجویز شده‌اند، دریافت می‌کنند. از این رو، احتمال بروز تداخلات دارویی در این بیماران بیشتر از سایر بیماران تحت درمان در مراکز بهداشتی- درمانی می‌باشد. بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان‌ها، به طور معمول بیماران بدحالی هستند که نیازمند مراقبت ویژه و دایم می‌باشند و از این رو، مستعد بروز تداخلات دارویی بسیاری هستند که این مشکل، با گسترش یافتن بیماری و از کار افتادگی اعضای بیمار پیچیده‌تر می‌شود (۷).

در نتیجه، بخش‌های مراقبت‌های ویژه مراکز بهداشتی- درمانی، از این بعد از سایر بخش‌ها متمایز می‌باشند که تعداد داروهای تجویز شده و نیز تعداد پزشک‌های تجویز کننده‌ی دارو در این بخش‌ها زیاد می‌باشند و به همین دلیل، بروز تداخلات فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک در اثر تجویز داروهای این بخش‌ها افزایش می‌یابد.

پزشکان معالج برای هر بیمار $0/88 \pm 2/43$ بود. برای هر فرد، حداقل ۳ دارو به صورت هم‌زمان تجویز شده بود و بیشترین تعداد داروی تجویز شده به صورت هم‌زمان، ۲۱ دارو بود. در ۸۸/۲ درصد از بیماران شرکت کننده در این مطالعه، تداخل دارویی اتفاق افتاده بود و میانگین تعداد تداخل‌های رخ داده در بخش‌های مراقبت‌های ویژه بیمارستان الزهرا (س)، $9/88 \pm 10/49$ بود. بازه‌ی تداخلات دارویی رخ داده در بیمارستان شرکت کننده در این مطالعه، ۰-۴۹ مورد بود. در مجموع داروهای مورد استفاده در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه، ۲۰۴۶ تداخل دارویی یافت شد که از نظر احتمال وقوع، نوع امکان پذیر، از نظر شدت تداخل، نوع متوسط و از نظر چگونگی شروع تداخل، نوع تأخیری، بیشترین درصد فراوانی را در بین تداخلات دارو بودند. پنتاپرازول، آترواستاتین و استامینوفن، شایع‌ترین داروهای مورد استفاده در بخش‌های مراقبت‌های ویژه این بیمارستان بودند (جدول ۱).

جدول ۱. لیست ۱۰ داروی پرمصرف در بخش‌های مراقبت‌های ویژه

ردیف	نام دارو	دفعات تجویز
۱	پنتاپرازول	۱۵۰
۲	آترواستاتین	۸۵
۳	استامینوفن (آپوتل)	۸۳
۴	مورفین	۷۸
۵	هپارین	۶۵
۶	سفتازیدیم	۶۰
۷	مروپنم	۵۶
۸	میدازولام	۴۹
۹	دگزامتازون	۴۷
۱۰	فنی‌توئین	۴۲

میانگین تداخلات خفیف، متوسط و شدید در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه، به ترتیب $2/16 \pm 1/63$ ، $7/80 \pm 8/05$ و $1/01 \pm 0/81$ بود. استفاده‌ی هم‌زمان مروپنم با دپاکین، وارفارین با انوکسپارین و سیپروفلوکساسیلین با وارفارین، شایع‌ترین تداخلات دارویی شدید یافت شده در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه بودند (جدول ۲). ارتباط معنی‌داری بین تعداد داروهای تجویز شده و میزان کل تداخلات دارویی یافت شد ($P < 0/01$, $r = +0/79$). بین تعداد کل تداخلات دارویی و تعداد پزشکان تجویز کننده‌ی دارو نیز ارتباط معنی‌داری یافت شد ($P < 0/01$, $r = +0/77$). همچنین، ارتباط معنی‌داری نیز بین تعداد کل تداخلات دارویی و طول مدت بستری و نیز سن بیماران مشاهده شد ($P < 0/01$).

Online نیز قابل دسترسی است. داروهای موجود در کاردکس دارویی بیمار یک به یک در نرم‌افزار وارد می‌شد. نرم‌افزار تمام تداخلات موجود در پروفایل دارویی را نشان می‌داد. این نرم‌افزار، همچنین اطلاعاتی در مورد مکانیسم و عارضه‌ی ناشی از تداخل بیان می‌نمود. تداخل‌های نشان داده شده، بر اساس درجه، دسته‌بندی شدند. درجه‌ی یک، شاخص سریع برای چگونگی پاسخ به تداخل‌های موجود در داروها می‌باشد. هر مونوگراف تداخل، می‌تواند به درجات خطر A, B, C, D و X تقسیم شوند. هر چه از درجه‌ی خطر A به سمت درجه‌ی خطر X می‌رویم، اهمیت تداخل افزایش می‌یابد. درجات خطر A و B، تداخلات خفیف هستند و نگرانی بالینی ندارند. درجات C, D و X همیشه نیازمند توجه گروه درمانی هستند. شرح توضیح تداخل‌های دارویی، به طور کامل در مونوگراف نمایش داده می‌شد که بر اساس شدت نتایج تداخل و نیز شروع تداخلات نشان داده می‌شد. شدت‌های تداخل عبارت از خفیف، متوسط و شدید بودند.

تداخلات خفیف، اثراتی هستند که به صورت قابل تحمل در بیشتر موارد در نظر گرفته می‌شوند و احتیاجی به مداخله‌ی درمانی ندارند. تداخلات متوسط: مواردی هستند که نیاز به مداخله‌ی بالینی برای درمان اثرات می‌باشد. تداخلات شدید، مواردی هستند که در آن‌ها ممکن است اثراتی نظیر مرگ، بستری شدن فرد، صدمات دائمی و شکست درمانی رخ دهد.

در مواردی که اطلاعاتی در مورد هر کدام از موارد پیش‌گفته (به خصوص شدت و زمان شروع) در نرم‌افزار وجود نداشته باشد، از کتاب «Drug Interaction Facts»، آخرین چاپ موجود استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) صورت گرفت. با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov توزیع طبیعی داده‌ها بررسی شد. بر حسب نتایج این آزمون، از آزمون‌های پارامتریک و یا غیر پارامتریک برای آنالیز داده‌های کمی استفاده گردید. برای بررسی ارتباط بین متغیرهای کمی، از آزمون‌های Spearman و Pearson استفاده شد. توزیع و ارتباط بین متغیرهای کیفی، با استفاده از آزمون χ^2 مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار و تعداد (درصد) بیان شدند و $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه‌ی مقطعی، تعداد ۱۹۵ بیمار بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه مورد ارزیابی قرار گرفتند که ۶۱/۵ درصد آن‌ها را مردان و ۳۸/۵ درصد را زنان تشکیل می‌دادند. میانگین سنی بیماران شرکت کننده در این مطالعه، $20/82 \pm 52/05$ بود. میانگین تعداد

جدول ۲. فراوانی شایع‌ترین تداخلات دارویی شدید در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه

ردیف	ترکیب دارویی	تعداد (درصد)
۱	Meropenem + Depakin	۱۳ (۸/۲)
۲	Warfarin + Enoxaparin	۹ (۶/۵)
۳	Ciprofloxacin + Warfarin	۸ (۵/۰)
۴	Fluconazol + Midazolam	۷ (۴/۴)
۵	Colistin + Tobramycin	۶ (۳/۷)
۶	Methadone + Quetiapine	۵ (۳/۱)
۷	Fluconazol + Fentanyl	۴ (۲/۵)
۸	Heparin + Warfarin	۴ (۲/۵)
۹	Clopidogrel + Fluconazol	۴ (۲/۵)
۱۰	Diltiazem + Fentanyl	۴ (۲/۵)

بحث

مطالعه‌ی حاضر، به بررسی فراوانی تداخلات دارویی در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه‌ی مرکز آموزشی-درمانی الزهرا (س) اصفهان پرداخت. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تداخلات دارویی در این بخش‌ها، از شیوع بسیار بالایی (۸۸/۲ درصد) برخوردار هستند. در مطالعه‌ی مشابهی که توسط رحیمی و همکاران به منظور بررسی میزان رخداد تداخلات دارویی بالقوه در بیماران بخش‌های مراقبت‌های ویژه صورت گرفت، فراوانی رخداد تداخلات دارویی ۷۳/۶ درصد تخمین زده شد که مشابه نتایج مطالعه‌ی حاضر، نشان دهنده‌ی میزان بروز بالای تداخلات دارویی در بخش‌های مراقبت‌های ویژه‌ی کشور می‌باشد (۸). همچنین، در این مطالعه نیز به طور مشابه ارتباط مستقیم معنی‌داری بین تعداد داروهای تجویز شده و میزان تداخلات دارویی یافت شد.

مطالعه‌ی مشابه دیگری که بر روی ۳۷۱ بیمار بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه به منظور بررسی تداخلات دارویی بالقوه صورت گرفت، علاوه بر گزارش شیوع بالای تداخلات دارویی، به طور مشابه با نتایج مطالعه‌ی حاضر، نشان داد که از نظر چگونگی آغاز، نوع تأخیری، از نظر شدت، نوع متوسط و از نظر احتمال وقوع، نوع امکان پذیر، بیشترین درصد تداخلات دارویی را به خود اختصاص می‌دهند (۹). تجویز هم‌زمان دو و یا تعداد بیشتری از داروها در یک بیمار، می‌تواند باعث بروز تداخلات فارماکودینامیک و یا فارماکوکینتیک شود. نتایج مطالعه‌ی حاضر، ارتباط معنی‌داری بین تعداد داروهای تجویز شده، تعداد پزشکان تجویز کننده و میزان تداخلات دارویی مشاهده شده در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه را نشان می‌دهد. این یافته، در مطالعات گذشته نیز نشان داده شده است و بدیهی است که می‌بایست در هر زمان تا حد

امکان تعداد ارقام دارویی کمتری برای بیمار تجویز شود و در مواردی که تعداد پزشکان تجویز کننده‌ی دارو برای بیمار افزایش می‌یابد، اهمیت توجه به سایر داروهای تجویز شده توسط سایر پزشکان به هر پزشک گوشزد شود و یا سیستم‌هایی برای آگاهی پزشکان از داروهای تجویز شده توسط سایر پزشکان که می‌توانند تداخلات دارویی بالقوه‌ای با داروهای تجویز شده توسط هر پزشک داشته باشند، تعبیه گردد (۱۰).

نتایج نشان می‌دهد که ارتباط معنی‌داری بین سن بیماران بستری شده در بخش‌های مراقبت‌های ویژه و میزان بروز تداخلات دارویی در آن‌ها وجود دارد. با توجه به این که پژوهش‌های گذشته بین تعداد بیماری‌های فرد بستری و خصوصیات دموگرافیک به خصوص سن و بروز تداخلات دارویی ارتباط معنی‌داری را نشان داده‌اند، به نظر می‌رسد داشتن اطلاعات در این زمینه‌ها، می‌تواند در تفسیر علت شیوع بالای این تداخلات کمک کننده باشد. موضوع بروز تداخلات دارویی در افراد مسن، از اهمیت به‌سزایی برخوردار است؛ چرا که افراد در این رده‌ی سنی، علاوه بر حساسیت خاصی که نسبت به سطح غلظت سرمی بالای داروها از خود بروز می‌دهند، به دلیل تعدد بیماری‌ها و مشکلات خاص خود، داروهای زیادی را به طور هم‌زمان مصرف می‌کنند (۱۱).

تمامی تداخلات موجود در بین داروهای تجویز شده در بخش‌های مراقبت‌های ویژه مضر نمی‌باشند و حتی گاهی مفید نیز می‌باشند، اما لازم است به این نکته اشاره نمود که مضر یا مفید بودن این تداخلات در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفته است و تنها به بروز آن‌ها و ارتباطات آن‌ها با مشخصات دموگرافیک بیماران پرداخته شده است. از این رو، مطالعات بیشتری به منظور بررسی میزان مضر بودن و نیز آسیب‌های بالینی حاصل از این تداخلات نیاز می‌باشد.

از دیگر نتایج این مطالعه، ارتباط بین طول مدت بستری و میزان تداخلات دارویی مشاهده شده است که احتمال می‌رود به دلیل بیماری‌هایی باشد که در طی بستری در بیمارستان نظیر عفونت‌های بیمارستانی، زخم بستر و بیماری‌های مرتبط با عدم تحرک بیماران باشد که خود منجر به افزایش داروهای مصرفی آن‌ها می‌شود و می‌تواند به صورت بالقوه، خطر بروز تداخلات دارویی را افزایش دهد. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که پرمصرف‌ترین دارو در بخش‌های مراقبت‌های ویژه، پنتاپرازول می‌باشد. به طور مشابه، در مطالعه‌ای که توسط Almeida و همکاران صورت گرفت، مشاهده شد که داروهای خشی کننده‌ی اسید معده، از پرمصرف‌ترین داروهای بخش مراقبت‌های ویژه محسوب می‌شوند. حدود ۷۵-۱۰۰ درصد بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه مراکز درمانی، به علت مشکلات بالینی، در خطر ابتلا به زخم‌های استرسی معده قرار دارند و به همین دلیل،

در این بیماران شود. از این رو، با کاهش تعداد داروهای تجویز شده برای هر بیمار، به کارگیری تعداد محدودی از داروهای مربوط به هر دسته‌ی دارویی، توجه ویژه به داروهای تجویز شده برای افراد مسن و افزایش آگاهی پرسنل درمانی در خصوص عوارض بالقوه‌ی تداخلات دارویی، می‌توان به طور مؤثری از بروز تداخلات دارویی و عوارض آن‌ها در بخش‌های مراقبت ویژه پیش‌گیری نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دکتری حرفه‌ای پزشکی عمومی با کد ۳۹۵۵۱۱ می‌باشد. منابع مالی طرح حاضر توسط دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین گردید. محققین بر خود لازم می‌دانند از جناب آقای دکتر مهرداد فرخی جهت همکاری‌های ارزشمندشان در تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها سپاسگزاری نمایند.

پیش‌گیری از بروز این اختلال برای بیشتر بیماران در معرض خطر صورت می‌گیرد (۱۱). از محدودیت‌های این مطالعه، می‌توان به حجم کم نمونه‌ی مورد مطالعه اشاره نمود. همچنین، از دیگر محدودیت‌های این مطالعه، می‌توان به عدم بررسی میزان تأثیر تداخلات دارویی بر روی علائم بالینی و پاراکلینیک بیماران اشاره نمود.

مطالعه‌ی حاضر، نشان می‌دهد که میزان بروز تداخلات دارویی در بخش‌های مراقبت‌های ویژه، بسیار بالا می‌باشد و این میزان، با عواملی همچون تعداد داروهای تجویز شده، تعداد پزشکان تجویز کننده‌ی دارو، طول مدت بستری و سن بیماران بستری در این بخش‌ها در ارتباط می‌باشد. اگر چه تمامی تداخلات دارویی موجود در بخش‌های مراقبت‌های ویژه منجر به آسیب جدی به بیماران بستری در این بخش‌ها نمی‌شود، اما شیوع بسیار بالای آن می‌تواند هشدار برای بروز تداخلات دارویی واقعی و بروز تظاهرات بالینی

References

1. Ewig CLY, Cheung HM, Kam KH, Wong HL, Knoderer CA. Occurrence of potential adverse drug events from prescribing errors in a pediatric intensive and high dependency unit in Hong Kong: An observational study. *Paediatr Drugs* 2017; 19(4): 347-55.
2. Shehab N, Lovegrove MC, Geller AI, Rose KO, Weidle NJ, Budnitz DS. US Emergency Department visits for outpatient adverse drug events, 2013-2014. *JAMA* 2016; 316(20): 2115-25.
3. Trinkley KE, Weed HG, Beatty SJ, Porter K, Nahata MC. Identification and characterization of adverse drug events in primary care. *Am J Med Qual* 2016.
4. Rekić D, Reynolds KS, Zhao P, Zhang L, Yoshida K, Sachar M, et al. Clinical drug-drug interaction evaluations to inform drug use and enable drug access. *J Pharm Sci* 2017; 106(9): 2214-8.
5. Desai A, Yamazaki T, Dietz AJ, Kowalski D, Lademacher C, Pearlman H, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of the drug-drug interaction between isavuconazole and warfarin in healthy subjects. *Clin Pharmacol Drug Dev* 2017; 6(1): 86-92.
6. Armstrong EP, Wang SM, Hines LE, Gao S, Patel BV, Malone DC. Evaluation of a drug-drug interaction: fax alert intervention program. *BMC Med Inform Decis Mak* 2013; 13(1): 32.
7. Leonard JB, Nair V, Diaz CJ, Penoyar JB, Goode PA. Potential drug interaction with opioid agonist in the setting of chronic low-dose opioid antagonist use. *Am J Emerg Med* 2017; 35(8): 1209.
8. Rahimi B, Gharabaghi N, Hesari Z, Balanji S, Alinia T. Prevalence of potential drug interactions in patients in the intensive care unit of urmia taleghani hospital. *J Urmia Univ Med Sci* 2013; 24 (2):133-45. [In Persian].
9. Rafiei H, Arab M, Ranjbar H, Sepehri GR, Arab N, Amiri M. The prevalence of potential drug interactions in Intensive Care Units. *Iran J Crit Care Nurs* 2012; 4(4): 191-6.
10. Vanham D, Spinewine A, Hantson P, Wittebole X, Wouters D, Sneyers B. Drug-drug interactions in the intensive care unit: Do they really matter? *J Crit Care* 2017; 38: 97-103.
11. Almeida S, Scatena Gama C, Akamine N. Prevalence and classification of drug-drug interactions in intensive care patients. *Einstein* 2007; 5(4):347-51.

The Frequency of Drug Interactions in Patients in the Intensive Care Units of Alzahra Hospital, Isfahan, Iran

Parviz Kashefi¹, Sara Mousavi², Ali Hosseini³

Original Article

Abstract

Background: The morbidity and mortality rates are increased in patients with drug interactions. Patients in the intensive care units are at risk for developing drug interactions for various reasons including impaired absorption, reduced metabolism, and renal failure, which are common in these patients. In this study, we aimed to investigate the frequency of drug interactions in patients admitted to intensive care units.

Methods: In this retrospective study, the prescriptions of 195 patients admitted to intensive care units of Alzahra hospital, Isfahan, Iran, were investigated. Drug interactions were determined using Lexi-Comp application and the textbook of Drug Interaction Facts. Statistical analysis was performed using SPSS software.

Findings: The frequency and mean drug reactions were 88.2% and 10.49 ± 9.88 , respectively. There were significant correlations between number of drug interactions and age, duration of hospitalization, and the number of prescribed medications and physicians ($P < 0.01$ for all). The mean mild, moderate, and severe drug interactions were 1.63 ± 2.16 , 8.05 ± 7.80 , and 0.81 ± 1.019 , respectively.

Conclusion: Significant drug reactions as potential risks of health were prevalent in patients in intensive care units. Detection of drug interactions, replacing of interacting drug with other drugs as much as possible, awareness of highly interacting drugs, and diminishing number of prescribed drugs can reduce the number of potential drug reactions and minimize their adverse events.

Keywords: Drug interactions, Intensive care unit, Prevalence

Citation: Kashefi P, Mousavi S, Hosseini A. **The Frequency of Drug Interactions in Patients in the Intensive Care Units of Alzahra Hospital, Isfahan, Iran.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(440): 905-10.

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

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

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

Corresponding Author: Ali Hosseini, Email: ali.hossaini.kh@gmail.com

کاهش میزان بیان گیرنده‌ی فعال کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم گاما (PPAR γ یا Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma)

در سرطان معده و ارتباط آن با پیشرفت تومور

غلام بساطی^۱، حدیثه محمدپور^۲، امیر نادر امامی رضوی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: گیرنده‌ی فعال کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم گاما (PPAR γ یا Peroxisome proliferator-activated receptor gamma) نقش بسیار مهمی در جلوگیری از پیشرفت و رشد سلول‌های سرطانی دارد. نقش PPAR γ در سرطان معده و ارتباط آن با پیشرفت بیماری، به خوبی مشخص نشده است. بنابراین، در مطالعه‌ی حاضر، وضعیت بیان PPAR γ در بافت توموری سرطان معده و ارتباط آن با پیشرفت بیماری مورد پژوهش قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مقطعی شاهد-موردی، میزان بیان PPAR γ در بافت توموری و بافت سالم مجاور آن در ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان معده که در انستیتو کانسر تهران تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند، با روش Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) کمی، مورد سنجش و مقایسه قرار گرفت. ارتباط میزان بیان PPAR γ در بافت توموری با پارامترهای بالینی-آسیب‌شناختی مرتبط با پیشرفت بیماری با استفاده از ضریب همبستگی Spearman مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان نسبی بیان PPAR γ در بافت توموری با فاصله‌ی اطمینان (۰/۸۹-۰/۱۵) (۰/۳۶) نسبت به بافت سالم مجاور آن با فاصله‌ی اطمینان (۰/۸۳-۱/۱۶) ۱/۰۱ کاهش چشم‌گیری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). ارتباط معنی‌داری بین میزان نسبی بیان ژن PPAR γ بافت توموری و ویژگی‌های آسیب‌شناختی مانند مرحله‌بندی سرطان، تمایز تومور، اندازه‌ی تومور و تهاجم تومور به سیستم لنفاوی و عروقی مشاهده شد. ارتباط معنی‌داری بین جنسیت، سن و وضعیت متاستاز به چشم نخورد.

نتیجه‌گیری: کاهش میزان بیان PPAR γ در بافت توموری سرطان معده نسبت به بافت سالم مجاور آن، با شاخص‌های آسیب‌شناختی پیشرفت و گسترش سرطان معده ارتباط معکوسی دارد. بنابراین، ممکن است نقش بسیار مهمی در پاتوفیزیولوژی سرطان معده داشته باشد.

واژگان کلیدی: گیرنده‌ی فعال کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم گاما، سرطان معده، مرحله‌بندی سرطان، پیشرفت بیماری

ارجاع: بساطی غلام، محمدپور حدیثه، امامی رضوی امیر نادر. کاهش میزان بیان گیرنده‌ی فعال کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم گاما (PPAR γ یا Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma) در سرطان معده و ارتباط آن با پیشرفت تومور. مجله

دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۰): ۹۱۱-۹۱۸

PPAR β و PPAR γ می‌باشند (۱). گیرنده‌ی PPAR γ این ابرخانواده در تمایز بافت چربی، ایجاد حساسیت به انسولین، فرایندهای التهابی، ایمنی سلولی و همچنین، چندین فرایند پاتولوژیک دیگر نظیر دیابت نوع ۲، آترواسکلروزیس و بیماری‌های قلبی-عروقی نقش بسیار کلیدی دارد (۱-۲).

مقدمه

گیرنده‌های فعال کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم (PPAR γ یا Peroxisome proliferator-activated receptor gamma)، یک ابرخانواده از گیرنده‌های هورمونی هسته‌ای با عملکرد فیزیوپاتولوژیکی گسترده هستند و شامل سه زیر گروه PPAR α ،

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

۲- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات سرطان، انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- دکتری تخصصی، بانک ملی تومور ایران، مرکز تحقیقات بیولوژی سرطان، انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Email: razavinader@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤو: امیر نادر امامی رضوی

با مرحله‌بندی تومور و دیگر مشخصات بالینی و آسیب‌شناسی بود.

روش‌ها

بیماران: در این مطالعه‌ی مقطعی شاهد-موردی، تعداد ۵۰ نفر از بین بیماران که در سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ به طور متوالی به علت سرطان معده در انستیتو کانسر تهران تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند و نمونه‌های آن‌ها در بانک ملی تومور ایران ذخیره شده بود، مورد بررسی قرار گرفتند. تشخیص سرطان معده، بر اساس یافته‌های بالینی و هیستوپاتولوژیکی توسط پاتولوژیست انجام گرفت. تعداد ۵۰ نمونه‌ی بافت تومور و نمونه‌ی بافت سالم مجاور آن مربوط به ۵۰ بیمار مبتلا به آدنوکارسینومای معده، وارد مطالعه شدند. هیچ یک از بیماران به دیگر انواع سرطان‌ها یا بیماری‌های التهابی مجرای گوارشی مبتلا نبودند. همچنین، افرادی که قبل از عمل جراحی سرطان معده تحت دیگر روش‌های درمانی مانند شیمی‌درمانی یا پرتودرمانی قرار گرفته بودند نیز به مطالعه وارد نشدند. افراد با رضایت کتبی آگاهانه در این مطالعه شرکت نمودند.

استخراج RNA از بافت: برای استخراج RNA نمونه‌های بافتی از کیت تجارتي استخراج RNA (Qiagen, Rneasy Microarray Tissue Mini Kit) مطابق دستورالعمل سازندگان آن استفاده گردید. در طی یکی از مراحل پایانی جداسازی RNA، نمونه‌ها مطابق دستورالعمل به مدت ۱۵ دقیقه نیز تحت تأثیر آنزیم Dnase (Rnase-Free Dnase Set, Qiagen) قرار گرفتند تا بقایای احتمالی DNA ژنومی موجود در آن‌ها حذف گردد. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با دستگاه نانودراپ (جذب در ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر) و الکتروفورز روی ژل آگارز ارزیابی گردید. نمونه‌های RNA استخراج شده، تا انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سنتز cDNA competently: نمونه‌های RNA (از هر نمونه ۵۰۰ نانوگرم) با استفاده از کیت تجارتي تبدیل RNA به cDNA (Takara Bio, Otsu, Japan) بر روی دستگاه ترمال سایکلر در یک چرخه‌ی دمایی ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و سپس یک مرحله‌ی غیر فعال‌سازی آنزیمی در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه رونویسی معکوس شدند. سپس، مخلوط واکنش cDNAهای پیش‌گفته، بلافاصله بر روی یخ خنک گردید. نمونه‌های cDNA تولید شده تا زمان مرحله‌ی بعدی یعنی Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

Real-time PCR: نمونه‌های cDNA تولید شده در مرحله‌ی قبل، ابتدا بر روی یخ ذوب گردیدند. سپس، با کمک مخلوط

افزون بر نقش‌های پیش‌گفته، PPAR γ در فرایندهای سلولی متعددی مانند مهار تکثیر و تمایز سلولی، القای مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی (۳)، مهار رگ‌زایی (۱) و مهار رشد سلول‌های سرطانی (۱) نیز نقش اساسی دارد. فعالیت ضد سرطانی PPAR γ در بسیاری از رده‌های سلولی سرطان‌های سینه، تیروئید، مری، معده، کولون، پروستات و لنفوما گزارش گردیده است (۳). اگر چه مکانیسم دقیق PPAR γ در جلوگیری از سرطان و مهار رشد سلول‌های توموری هنوز نامشخص است (۴)، با این حال به نظر می‌رسد که PPAR γ به عنوان یک عامل سرکوبگر توموری عمل نماید. بیان مداوم ژن PPAR γ باعث تنظیم کاهشی مسیر انتقال سیگنال Wnt/ β -Catenin می‌شود. لازم به ذکر است که مسیر انتقال این سیگنال، نقش بسیار مهمی در پیشرفت بدخیمی‌های معده دارد (۵). PPAR γ در رده‌های سلولی سرطان معده، باعث افزایش بیان ژن سرکوبگر توموری موسوم به پروتئین ۳ متصل شونده به هورمون رشد شبه انسولینی (IGFBP-3 یا Isulin-like growth factor-binding protein-3) می‌شود (۶). همچنین، PPAR γ مرحله‌ی گذار سلول‌های اپیتلیال به مزانشیمال (یک مرحله‌ی کلیدی در ایجاد قابلیت مهاجمی و متاستاز در سلول‌های سرطانی) را کاهش می‌دهد (۷).

جهش‌هایی که منجر به از بین رفتن فعالیت PPAR γ می‌شوند، تنها در ۸ درصد موارد سرطان کولون مشاهده شده‌اند (۸). همچنین، اغلب مطالعات نشان داده‌اند که جهش در ژن PPAR γ یک اتفاق بسیار نادر در بدخیمی‌های انسانی مانند سرطان کولون و معده است (۹). با این وجود، تغییرات پس ترجمه‌ای و رخداد‌های اپی‌ژنتیکی که منجر به غیر فعال شدن و کاهش بیان ژن PPAR γ می‌شوند، نیز در سرطان‌های کولورکتال گزارش شده‌اند (۱۰-۱۳). جالب‌تر آن که، کاهش بیان اپی‌ژنتیکی PPAR γ با خصوصیات شدیدتر بیماری و پیش‌آگهی ضعیف سرطان‌های کولورکتال ارتباط نشان داده است (۱۴، ۱۵). کاهش بیان ژن PPAR γ در بافت توموری سرطان مری و ارتباط آن با پیش‌آگهی ضعیف بیماری گزارش شده است (۱۵).

از نقطه نظر بالینی، بررسی وضعیت بیان ژن PPAR γ در نمونه‌های بافت توموری و بافت سالم در سرطان معده، می‌تواند بسیار حایز اهمیت باشد. از طرفی، اطلاعات چندانی در مورد وضعیت بیان PPAR γ در نمونه‌های بافت توموری در سرطان معده وجود ندارد. تنها در یک مطالعه که به تازگی صورت گرفته است، کاهش میزان PPAR γ در بافت توموری کارسینومای معده نسبت به بافت سالم مجاور آن با روش رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی نشان داده شده است (۱۶). بنابراین، هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی کمی میزان بیان PPAR γ در نمونه‌های بافت توموری و بافت سالم مجاور آن‌ها در افراد مبتلا به آدنوکارسینومای معده و نیز ارتباط میزان بیان آن

آن‌ها تهیه گردید، مورد ارزیابی قرار گرفت و بر این اساس، کارایی تکثیر در آن‌ها به طور تقریبی مشابه بود. بنابراین، برای طبیعی‌سازی تغییرات $\beta 2M$ mRNA در بین نمونه‌ها، از $\beta 2M$ mRNA به عنوان یک شاهد مناسب استفاده شد و روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ مورد استفاده قرار گرفت (۱۷).

به طور خلاصه، ابتدا CT مربوط به $\beta 2M$ و PPAR γ در نمونه‌های تومور و بافت سالم مجاور آن تعیین و سپس ΔCT آن‌ها مطابق رابطه‌ی $\Delta CT = (PPAR\gamma) - CT(\beta 2M)$ به دست آمد. در مرحله‌ی بعد، مقدار $\Delta\Delta CT$ هر مورد مطابق رابطه‌ی (بافت طبیعی مجاور) $\Delta CT - \Delta CT$ (بافت توموری) $= \Delta\Delta CT$ محاسبه گردید. در نهایت، مقدار mRNA طبیعی شده‌ی هر نمونه بافتی برابر با $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه گردید. مطابق این روش، میزان بیان ژن PPAR γ در بافت توموری نسبت به بافت سالم مجاور آن محاسبه می‌شود.

آنالیز آماری: داده‌ها به صورت میانه (دامنه‌ی بین چارکی) و تعداد (درصد) نمایش داده شدند. تفاوت میزان PPAR γ بافت تومور با بافت سالم مجاور آن با آزمون Wilcoxon، بین دو گروه از بیماران با آزمون Mann-Whitney و بین بیش از دو گروه از بیماران با آزمون Kruskal-Wallis بررسی شد. ضریب همبستگی Spearman (ρ) برای نشان دادن ارتباط بین دو متغیر کمی و رتبه‌ای به کار رفت. برای واکاوی داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) استفاده و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان معده شامل ۴۰ مرد و ۱۰ زن با میانگین سنی 60.77 ± 11.76 سال شرکت نمودند. مشخصات بالینی-آسیب‌شناختی و میزان نسبی بیان ژن PPAR γ بافت توموری بیماران در جدول ۱ آمده است. در این جدول، میزان نسبی بیان ژن PPAR γ بافت توموری بر حسب ویژگی‌های بالینی-آسیب‌شناختی با هم مقایسه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، ارتباط معنی‌داری بین میزان نسبی بیان ژن PPAR γ بافت توموری و ویژگی‌های آسیب‌شناختی مانند مرحله‌بندی سرطان (Tumor, node and metastasis staging یا TNM staging)، درجه‌ی تومور، اندازه‌ی تومور، تهاجم تومور به سیستم لنفاوی و عروقی دیده می‌شود. با این حال، در ارتباط با دیگر مشخصات مانند جنسیت، سن و وضعیت متاستاز تفاوت قابل توجهی مشاهده نشد (جدول ۱).

در یک تجزیه و تحلیل دیگر در این بیماران، میزان نسبی بیان PPAR γ در بافت توموری با بافت سالم مجاور آن با هم مقایسه گردید.

Mastermix (RT SYBR Green qPCR Mastermixes, Qiagen) تکثیر شدند. ابتدا، مطابق دستورالعمل کیت، اجزای مخلوط واکنش شامل Sybr green master mix، پرایمر و آب فاقد نوکلئاز در یک لوله‌ی ۵ میلی‌لیتری در دمای محیط تهیه گردید. آن گاه، ۲۴ میکرولیتر از مخلوط واکنش به هر چاهک پلیت Real-time PCR که به آن‌ها مخلوط یک میکرولیتر محلول واکنش cDNA افزوده شده بود، اضافه گردید. بدین ترتیب، حجم نهایی هر چاهک واکنش به ۲۵ میکرولیتر رسید. پلیت بعد از پوشاندن چاهک‌های آن، به مدت یک دقیقه در دمای اتاق و در شتاب $1000 g$ سانتیفریوژ گردید تا حباب‌های هوای موجود در چاهک‌ها خارج شد و اجزای واکنش به خوبی مخلوط شدند. مخلوط واکنش توسط دستگاه Real-time PCR (Bioneer, ExicyclerTM 96) تکثیر گردید.

برنامه‌ی دمای واکنش شامل گرم کردن اولیه‌ی بلوک حرارتی دستگاه تا دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، یک مرحله دناتوراسیون مخلوط واکنش در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، سپس ۴۰ چرخه‌ی دمایی به صورت ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه اعمال گردید. برای هر نمونه، دو چاهک اختصاص داده شد و میانگین چرخه‌ی آستانه (Cycle threshold یا CT) آن‌ها برای هر نمونه محاسبه گردید. پرایمرهای لازم برای PPAR γ شامل توالی بالادست FWD: GCCTGCATCTCCACCTTATT و توالی پایین‌دست REV: CCTTACAAGCATGAACTCC و $\beta 2$ -میکروگلوبولین (Beta-2-microglobulin یا $\beta 2M$) (به عنوان شاهد) شامل توالی بالادست FWD: CTCACGTCATCCAGCAGAGA و توالی پایین‌دست REV: GTCAACTTCAATGTCGGATGGA بودند که پس از گرفتن توالی ژن‌ها در سایت UCSC genome browser به صورت آنلاین در سایت Primer3 طراحی گردید و با استفاده از نرم‌افزار Primer3 و Generunner (Integrated device technology) Oligoanalyzer یا IDT چک شد.

بعد از اتمام واکنش، برنامه‌ی آنالیز نقطه‌ی ذوب اجرا گردید تا ویژگی (Specificity) واکنش Real-time PCR برای همه‌ی نمونه‌ها تأیید شود. بدین ترتیب، با تجزیه و تحلیل منحنی ذوب، پیک اصلی مربوط به تکثیر Messenger RNA (mRNA) PPAR γ مشخص گردید. چرخه‌ی آستانه با استفاده از نرم‌افزار دستگاه تعیین گردید.

قبل از انجام واکنش Real-time PCR کارایی تکثیر برای cDNAهای PPAR γ و $\beta 2M$ با استفاده از رقت‌های سریالی که از

جدول ۱. رابطه‌ی بین عوامل بالینی - آسیب‌شناسی و میزان نسبی بیان PPAR γ (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma) بافت توموری سرطان معده در بیماران تحت مطالعه

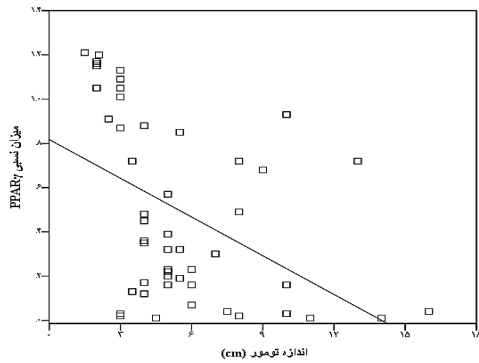
متغیر	تعداد بیماران	میزان بیان PPAR γ (دامنه‌ی بین چارکی) میانه	مقدار P
جنسیت			۰/۰۵۰
مرد	۴۰ (۸۰)	۰/۳۷ (۰/۱۶-۰/۹۷)	
زن	۱۰ (۲۰)	۰/۲۰ (۰/۰۳-۰/۸۷)	
سن (سال)			۰/۰۵۰
≤ 60	۲۳ (۴۶)	۰/۴۸ (۰/۰۳-۰/۹۱)	
> 60	۲۷ (۵۴)	۰/۳۰ (۰/۱۶-۰/۸۵)	
مرحله‌بندی سرطان (TNM staging)			۰/۰۱۰
0	۴ (۸)	۱/۱۷ (۰/۹۵-۱/۲۰)	
I	۴ (۸)	۱/۱۰ (۰/۹۴-۱/۱۷)	
II	۱۱ (۲۲)	۰/۷۲ (۰/۲۳-۱/۰۵)	
III	۱۶ (۳۲)	۰/۳۱ (۰/۱۷-۰/۴۳)	
IV	۱۵ (۳۰)	۰/۱۳ (۰/۰۳-۰/۳۶)	
درجه‌ی تومور			۰/۰۴۳
I (خوب تمایز یافته)	۵ (۱۶)	۱/۱۳ (۱/۰۷-۱/۵۵)	
II (با تمایز متوسط)	۱۸ (۳۶)	۰/۴۶ (۰/۲۰-۱/۰۲)	
III (با تمایز خیلی کم)	۱۹ (۳۸)	۰/۲۳ (۰/۰۴-۰/۵۷)	
IV (تمایز نیافته)	۸ (۱۶)	۰/۱۲ (۰/۰۲-۰/۸۳)	
اندازه‌ی تومور (سانتی‌متر)			۰/۰۱۲
≤ 5	۳۱ (۶۲)	۰/۴۸ (۰/۲۰-۱/۰۵)	
> 5	۱۹ (۳۸)	۰/۱۹ (۰/۰۴-۰/۶۸)	
وضعیت متاستاز			۰/۵۳۰
M0	۴۲ (۸۴)	۰/۳۷ (۰/۱۵-۰/۹۱)	
M1	۸ (۱۶)	۰/۱۹ (۰/۱۵-۰/۶۲)	
تهاجم لنفاوی			۰/۰۲۳
بلی	۳۰ (۶۰)	۰/۲۴ (۰/۰۶-۰/۷۰)	
خیر	۲۰ (۴۰)	۰/۷۸ (۰/۲۴-۱/۱۲)	
تهاجم عروقی			۰/۰۴۱
بلی	۳۲ (۶۴)	۰/۳۴ (۰/۰۴-۰/۷۲)	
خیر	۱۸ (۳۶)	۰/۵۳ (۰/۲۱-۱/۱۵)	

PPAR γ : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma; TNM staging: Tumor, node and metastasis staging

داده‌ها به صورت میانه (دامنه‌ی بین چارکی) و تعداد (درصد) نمایش داده شدند. تفاوت میزان PPAR γ بین دو گروه از بیماران با آزمون Mann-Whitney و بین بیش از دو گروه از بیماران با آزمون Kruskal-Wallis بررسی شد.

و درجه‌ی تومور از آزمون ضریب همبستگی Spearman استفاده شد. با توجه به شکل‌های ۲ و ۳، می‌توان دریافت که میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری با مرحله‌بندی بالینی سرطان ($P = 0/010$, $\rho = -0/540$)، درجه‌ی تومور ($P = 0/010$, $\rho = -0/430$) و اندازه‌ی تومور ($P = 0/010$, $\rho = -0/380$) ارتباط معنی‌دار و معکوسی داشت.

چنانچه در شکل ۱ نمایش داده شده است، میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری کاهش چشم‌گیری نسبت به بافت سالم مجاور آن نشان داد ($P < 0/001$) (شکل ۱).
برای تعیین ارتباط کمی بین میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری با دیگر ویژگی‌های کمی و رتبه‌ای آسیب‌شناختی مانند اندازه، مرحله‌بندی

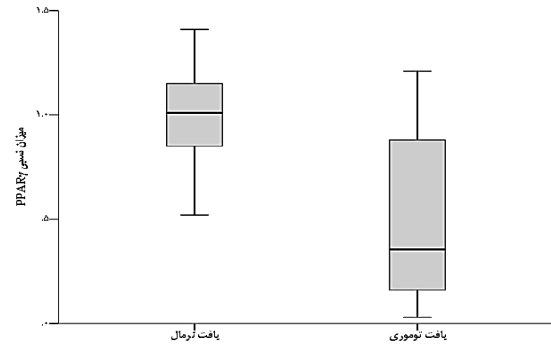


شکل ۳. ارتباط بین میزان نسبی بیان Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) بافت توموری و اندازه‌ی تومور در بیماران مبتلا به سرطان معده. میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری با اندازه‌ی تومور ($P = 0/10$, $\rho = -0/380$)، ارتباط معکوس و به نسبت قوی نشان داد.

همچنین، مشخص گردید که میزان بیان این ژن با بعضی از شاخص‌های آسیب‌شناختی مانند مرحله‌بندی سرطان (TNM staging)، درجه‌ی تومور، اندازه‌ی تومور، تهاجم تومور به سیستم لنفاوی و عروقی ارتباط معکوسی دارد. این یافته، حاکی از آن است که میزان بیان ژن PPAR γ ممکن است نقش بسیار مهمی در فیزیوپاتولوژی سرطان معده داشته باشد؛ به طوری که با کاهش میزان بیان آن، ممکن است وضعیت بیماری وخیم‌تر گردد.

اثرات PPAR γ بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی به وسیله‌ی مطالعات مختلفی نشان داده شده است (۳). نقش PPAR γ به عنوان یک عامل رونویسی مهار کننده‌ی رشد سلولی و نیز القا کننده‌ی مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی در سرطان معده، در یک مطالعه‌ی اخیر نشان داده شده است (۳). همچنین، به تازگی، تأثیر افزایش بیان PPAR γ بر مهار رشد سلول‌های سرطان پستان گزارش گردیده است (۱۸). همین‌طور، در شرایط آزمایشگاهی، آگونیست‌های PPAR γ توانسته‌اند که رشد سلول‌های سرطان معده را مهار کنند و باعث القای مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی در آن‌ها شوند (۱۹). با توجه به این مطالعات، به نظر می‌رسد که مهار رشد سلولی و القای مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی، یکی از اثرات اصلی PPAR γ در جلوگیری از رشد تومورهای سرطانی نظیر سرطان معده باشد. بر این اساس، ارتباط معکوس بین میزان PPAR γ بافت توموری و اندازه‌ی تومور که در مطالعه‌ی حاضر مشاهده گردید، ممکن است قابل توجیه باشد.

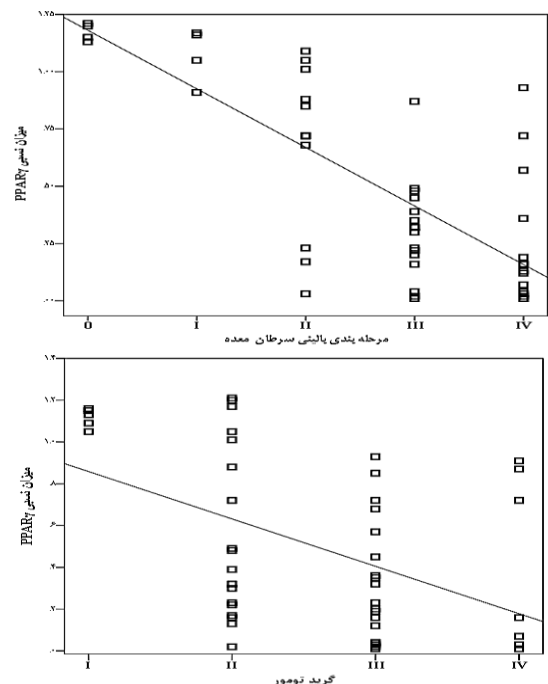
بیان مداوم PPAR γ در سلول‌های سرطانی معده، باعث مهار رشد و نیز قابلیت مهاجرت آن‌ها می‌شود (۵)؛ قابلیت که برای پیشرفت و تهاجم سلول‌های سرطانی به بافت‌های مجاور و گسترش آن به اندام‌های دوردست الزامی خواهد بود. کاهش بیان PPAR γ



شکل ۱. مقایسه‌ی میزان نسبی بیان Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) بافت توموری با بافت سالم مجاور آن در بیماران مبتلا به سرطان معده. تفاوت میزان PPAR γ بین بافت توموری و بافت سالم مجاور آن با آزمون Wilcoxon بررسی شد.

بحث

در این مطالعه، کاهش میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری در مقایسه با بافت سالم مجاور آن در بیماران مبتلا به سرطان معده مشاهده گردید.



شکل ۲. ارتباط بین میزان نسبی بیان Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) بافت توموری با مرحله‌بندی سرطان (A) و درجه‌ی تومور (A) در بیماران مبتلا به سرطان معده. میزان نسبی بیان PPAR γ بافت توموری با مرحله‌بندی بالینی سرطان ($P = 0/10$, $\rho = -0/540$) و درجه‌ی تومور ($P = 0/10$, $\rho = -0/430$)، ارتباط معکوس و به نسبت قوی دارد.

(۱۶). اگر چه در آن مطالعه، میزان بیان PPAR γ در بافت توموری با تمایز بافتی رابطه‌ی معکوسی نشان داده بود، اما با مرحله‌بندی بالینی و تهاجم به گره‌های لنفاوی، ارتباط معنی‌داری نشان نداده بود که علت آن را وجود تنها نمونه‌های بافت توموری اولیه در مطالعه ذکر کرده بودند. در هر صورت، نتیجه‌ی آن مطالعه تا حد زیادی با مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد.

در این مطالعه، رابطه‌ی معنی‌داری بین میزان بیان PPAR γ در بافت توموری و وضعیت متاستاز مشاهده نگردید. اگر چه میزان بیان PPAR γ در بیماران دارای متاستاز کمتر از بیماران بدون متاستاز بود، اما این تفاوت معنی‌دار نبود. با توجه به آن که تعداد افراد دارای متاستاز در این مطالعه بسیار اندک (۸ نفر) بود، احتمال آن می‌رود که تعداد اندک بیماران دارای متاستاز در این مورد بی‌تأثیر نبوده است. نتیجه‌گیری نهایی این که میزان بیان PPAR γ در بافت توموری سرطان معده نسبت به بافت سالم مجاور آن کاهش می‌یابد. همچنین، میزان بیان PPAR γ در بافت توموری با شاخص‌های آسیب‌شناسختی پیشرفت و گسترش سرطان معده ارتباط معکوس نشان داد و بنابراین، ممکن است نقش بسیار مهمی در پاتوفیزیولوژی سرطان معده داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی با کد ۹۴۲۰۲۰/۱۵۸ مصوب دانشگاه علوم پزشکی ایلام می‌باشد که با همکاری دانشگاه علوم پزشکی تهران اجرا شده است.

بافت توموری متناسب با افزایش مرحله‌بندی بالینی سرطان معده در مطالعه‌ی حاضر با یافته‌های مطالعه‌ی اخیر هم‌خوانی دارد. وجود خصوصاتی مانند تهاجم سلولی، مهاجرت سلولی و مهم‌تر از آن‌ها تغییر فنوتیپی یا گذار سلولی از وضعیت اپی‌تلایل به مزانشیمال، برای گسترش و ایجاد تمایز نیافتگی سلول‌های سرطانی ضروری است. در مطالعه‌ی جدیدی، بیان بسیار بالای PPAR γ باعث مهار همه‌ی این صفات سرطان‌زایی در سرطان معده شده است؛ به طوری که افرادی که میزان بیان PPAR γ در بافت توموری آن‌ها بیشتر بود، پیش‌آگهی بهتری نیز داشتند (۷). بنابراین، ارتباط معکوس میزان بیان PPAR γ بافت توموری با مرحله‌بندی بالینی، وضعیت تمایز سلولی و نیز تهاجم به سیستم لنفاوی و عروقی در مطالعه‌ی حاضر، چندان دور از انتظار نیست و با نتایج این مطالعه‌ی اخیر، مطابقت دارد. همچنین، در تأیید یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، می‌توان به مطالعه‌ی دیگری اشاره نمود که در آن نیز ارتباط معکوس میزان بیان PPAR γ در بافت توموری با اندازه‌ی تومور، درجه‌ی تومور و تهاجم به گره‌های لنفاوی در سرطان پستان گزارش شده بود (۲۰).

در ارتباط با مقایسه‌ی میزان بیان PPAR γ بافت توموری با بافت سالم مجاور آن در بیماران سرطان معده، اطلاعات اندکی وجود دارد. در یک مطالعه که در آن میزان بیان PPAR γ در بافت توموری آدنوکارسینومای معده و بافت سالم مجاور آن با روش ایمونوهیستوشیمی سنجش گردیده بود، مشخص شد که میزان آن در بافت توموری نسبت به بافت سالم مجاور آن کاهش چشم‌گیری دارد

References

- Han L, Shen WJ, Bittner S, Kraemer FB, Azhar S. PPARs: Regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease. Part II: PPAR-beta/delta and PPAR-gamma. *Future Cardiol* 2017; 13(3): 279-96.
- Rosen ED, Spiegelman BM. PPARgamma: A nuclear regulator of metabolism, differentiation, and cell growth. *J Biol Chem* 2001; 276(41): 37731-4.
- Elrod HA, Sun SY. PPARgamma and apoptosis in cancer. *PPAR Res* 2008; 2008: 704165.
- Krishnan A, Nair SA, Pillai MR. Biology of PPAR gamma in cancer: A critical review on existing lacunae. *Curr Mol Med* 2007; 7(6): 532-40.
- Guo F, Ren X, Dong Y, Hu X, Xu D, Zhou H, et al. Constitutive expression of PPARgamma inhibits proliferation and migration of gastric cancer cells and down-regulates Wnt/beta-Catenin signaling pathway downstream target genes TERT and ENAH. *Gene* 2016; 584(1): 31-7.
- Kim SY, Kim MS, Lee MK, Kim JS, Yi HK, Nam SY, et al. PPARgamma induces growth inhibition and apoptosis through upregulation of insulin-like growth factor-binding protein-3 in gastric cancer cells. *Braz J Med Biol Res* 2015; 48(3): 226-33.
- Cho SJ, Kook MC, Lee JH, Shin JY, Park J, Bae YK, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma upregulates galectin-9 and predicts prognosis in intestinal-type gastric cancer. *Int J Cancer* 2015; 136(4): 810-20.
- Sarraf P, Mueller E, Smith WM, Wright HM, Kum JB, Aaltonen LA, et al. Loss-of-function mutations in PPAR gamma associated with human colon cancer. *Mol Cell* 1999; 3(6): 799-804.
- Ikezoe T, Miller CW, Kawano S, Heaney A, Williamson EA, Hisatake J, et al. Mutational analysis of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene in human malignancies. *Cancer Res* 2001; 61(13): 5307-10.
- Burgermeister E, Seger R. MAPK kinases as nucleocytoplasmic shuttles for PPARgamma. *Cell Cycle* 2007; 6(13): 1539-48.
- Garcia-Bates TM, Lehmann GM, Simpson-Haidaris PJ, Bernstein SH, Sime PJ, Phipps RP. Role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and its ligands in the treatment of hematological malignancies. *PPAR Res* 2008; 2008: 834612.
- Pancione M, Forte N, Sabatino L, Tomaselli E, Parente D, Febbraro A, et al. Reduced beta-catenin

- and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression levels are associated with colorectal cancer metastatic progression: Correlation with tumor-associated macrophages, cyclooxygenase 2, and patient outcome. *Hum Pathol* 2009; 40(5): 714-25.
13. Pancione M, Sabatino L, Fucci A, Carafa V, Nebbioso A, Forte N, et al. Epigenetic silencing of peroxisome proliferator-activated receptor gamma is a biomarker for colorectal cancer progression and adverse patients' outcome. *PLoS One* 2010; 5(12): e14229.
 14. Ogino S, Shima K, Baba Y, Nosho K, Irahara N, Kure S, et al. Colorectal cancer expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG, PPARgamma) is associated with good prognosis. *Gastroenterology* 2009; 136(4): 1242-50.
 15. Terashita Y, Sasaki H, Haruki N, Nishiwaki T, Ishiguro H, Shibata Y, et al. Decreased peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene expression is correlated with poor prognosis in patients with esophageal cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2002; 32(7): 238-43.
 16. Yu H, Xin Y. Down-regulated expressions of PPARgamma and its coactivator PGC-1 are related to gastric carcinogenesis and Lauren's classification in gastric carcinoma. *Chin J Cancer Res* 2013; 25(6): 704-14.
 17. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25(4): 402-8.
 18. Koronowicz AA, Banks P, Master A, Domagala D, Piasna-Slupecka E, Drozdowska M, et al. Fatty Acids of CLA-Enriched Egg Yolks Can Induce Transcriptional Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in MCF-7 Breast Cancer Cells. *PPAR Res* 2017; 2017: 2865283.
 19. Liu Y, Zhu ZA, Zhang SN, Mou J, Liu L, Cui T, et al. Combinational effect of PPARgamma agonist and RXR agonist on the growth of SGC7901 gastric carcinoma cells in vitro. *Tumour Biol* 2013; 34(4): 2409-18.
 20. Jiang Y, Zou L, Zhang C, He S, Cheng C, Xu J, et al. PPARgamma and Wnt/beta-Catenin pathway in human breast cancer: expression pattern, molecular interaction and clinical/prognostic correlations. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135(11): 1551-9.

Low Expression Levels of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ) in Gastric Cancer and its Relationship with Tumor Progression

Gholam Basati¹, Hadiseh Mohammadpour², Amirnader Emami-Razavi³

Original Article

Abstract

Background: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) plays a crucial role in hindering the progression and growth of cancer cells. The function of PPAR γ in gastric cancer and its relationship with progression of the disease have not been appropriately defined. Therefore, this study examined the association of PPAR γ expression in tumor with advancement of gastric cancer.

Methods: In the cross-sectional case-control study, the expression of PPAR γ in tumoral and the paired adjacent normal tissues of 50 patients with gastric cancer, who undergone tumor resection at Institute of Imam Khomeini University Hospital, Tehran, Iran, were assayed and compared using quantitative real-time polymerase chain reaction method. Correlation between PPAR γ expression in tumor tissue and the cancer progression relevant clinicopathological features was evaluated using the Spearman's rho correlation test.

Findings: The relative expression levels of PPAR γ in tumoral tissues were shown to be profoundly decreased compared with their adjacent normal tissues [0.36 (0.15-0.89) vs. 1.01 (0.83-1.16), $P < 0.001$]. There was significant correlation between the relative expression level of PPAR γ in tumoral tissues and clinicopathological features such as cancer staging, tumor differentiation, tumor size, and lymphatic and vascular invasion. However, there was no noticeable correlation between the relative PPAR γ expression level and other features such as age, gender, and metastasis.

Conclusion: Decreased expression of PPAR γ in gastric cancer tissue compared to the adjacent normal tissues is inversely associated with the cancer progression and development relevant clinicopathological features; hence, it may play an important role in the pathophysiology of gastric cancer.

Keywords: PPAR gamma, Gastric cancer, Cancer staging, Disease progression

Citation: Basati G, Mohammadpour H, Emami-Razavi A. Low Expression Levels of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ) in Gastric Cancer and its Relationship with Tumor Progression. J Isfahan Med Sch 2017; 35(440): 911-8.

1- Associate Professor, Biotechnology and Medicinal Plants Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

2- Cancer Research Center, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- PhD, Iran National Tumor Bank, Cancer Biology Research Center, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Amirnader Emami-Razavi, Email: razavinader@gmail.com

بررسی اثر مصرف آب قره‌قاط غنی‌سازی شده با امگا ۳ و مصرف جداگانه‌ی هر کدام به همراه درمان‌های غیر جراحی پریدنتال بر کنترل گلیسمیک و پروفایل لیپیدی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ دچار بیماری پریدنتال

احمد زارع جاوید^۱، الناز اشرف‌زاده^۲، حسین بابایی^۳، حجت‌اله یوسفی‌منش^۴، مهرنوش ذاکرکیش^۵، کامبیز احمدی انگالی^۶، غلامرضا عسگری^۷

مقاله کوتاه

چکیده

مقدمه: بیماری پریدنتال مزمن، یکی از عوارض دیابت است. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر مصرف آب قره‌قاط غنی‌سازی شده با امگا ۳ به همراه درمان‌های غیر جراحی پریدنتال بر پروفایل لیپیدی و قندی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ دچار بیماری پریدنتال بود.

روش‌ها: در این کارآزمایی بالینی، ۴۱ نفر بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ دچار بیماری پریدنتال متوسطه، به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. گروه شاهد (۱۲ نفر)، گروه امگا ۳ (۱۰ نفر)، گروه آب قره‌قاط (۹ نفر) و گروه آب قره‌قاط غنی شده با امگا ۳ (۱۰ نفر) به مدت ۸ هفته در این مطالعه شرکت کردند. این بیماران در ابتدای مطالعه و در هفته‌ی ۴ام و نیز در آخر مطالعه، تحت درمان غیر جراحی پریدنتال قرار گرفتند. قند خون ناشتا، هموگلوبین گلیکوزیله و پروفایل چربی در ابتدا و انتهای مطالعه اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: هموگلوبین گلیکوزیله، در گروه امگا ۳ به میزان ۱۱ درصد ($P = 0/017$) و در گروه آب قره‌قاط غنی شده با امگا ۳، به میزان ۷ درصد ($P = 0/014$) کاهش داشت که این کاهش در گروه امگا ۳ نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود. همچنین، در مقایسه‌ی دو به دوی گروه‌ها، افزایش معنی‌داری در میزان HDL-C (High-density lipoprotein cholesterol) در گروه آب قره‌قاط غنی شده با امگا ۳، نسبت به گروه امگا ۳ و گروه آب قره‌قاط مشاهده شد. سطوح قند خون ناشتا، تری‌گلیسیرید، کلسترول تام و LDL-C (Low-density lipoprotein cholesterol) در هیچ یک از گروه‌ها کاهش قابل توجهی نداشت.

نتیجه‌گیری: می‌توان آب قره‌قاط غنی شده با امگا ۳ را به همراه درمان غیر جراحی پریدنتال به بیماران مبتلا به دیابت با عارضه‌ی پریدنتال، برای بهبود هموگلوبین گلیکوزیله و HDL توصیه کرد.

واژگان کلیدی: دیابت، بیماری پریدنتال، قره‌قاط، پروفایل لیپیدی، هموگلوبین گلیکوزیله

ارجاع: زارع جاوید احمد، اشرف‌زاده الناز، بابایی حسین، یوسفی‌منش حجت‌اله، ذاکرکیش مهرنوش، احمدی انگالی کامبیز، عسگری غلامرضا. بررسی اثر مصرف آب قره‌قاط غنی‌سازی شده با امگا ۳ و مصرف جداگانه‌ی هر کدام به همراه درمان‌های غیر جراحی پریدنتال بر کنترل گلیسمیک و پروفایل لیپیدی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ دچار بیماری پریدنتال. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۰): ۹۲۶-۹۱۹

بوده است که طبق برآورد اخیر سازمان جهانی بهداشت، تعداد این افراد در سال ۲۰۲۵، به ۳۰۰ میلیون نفر افزایش می‌یابد و بیش از یک سوم این افراد با سن بالاتر از ۳۰ سال دچار بیماری پریدنتال خواهند

مقدمه

بیماری دیابت نوع ۲، تهدیدکننده‌ی سلامتی انسان‌ها در قرن ۲۱ است. آمار مبتلایان به دیابت در سال ۱۹۹۷ حدود ۱۲۵ میلیون نفر

- ۱- استادیار، مرکز تحقیقات تغذیه و بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
- ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تغذیه، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
- ۳- مرکز تحقیقات علوم کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
- ۴- استادیار، گروه پرودنتولوژی، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
- ۵- استادیار، گروه غدد و متابولیسم، پژوهشکده‌ی سلامت، مرکز تحقیقات دیابت، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
- ۶- استادیار، گروه آمار حیاتی، دانشکده‌ی بهداشت و مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
- ۷- استادیار، گروه تغذیه‌ی جامعه، دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: elnazashrafzade@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤول: الناز اشرف‌زاده

فعال فنلی است. فلاونوئیدها، مهم‌ترین فیتوکمیکال در میوه قره‌قاپ می‌باشند و پروآنتوسیانیدین‌ها (Proanthocyanidins یا PACs) فراوان‌ترین فلاونوئید در میوه قره‌قاپ است که دارای ویژگی ضد میکروبی، ضد چسبندگی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی است. همچنین پروآنتوسیانیدین‌ها در این میوه می‌توانند از طریق مهار چسبندگی و تهاجم پاتوژن‌های پریدنتال و نیز خنثی کردن پروتازها و توکسین‌های این پاتوژن‌ها، در جلوگیری از تخریب بافت همبند و کنترل بیماری پریدنتال مفید باشند (۹).

اگر چه مطالعات متعددی در زمینه‌ی اثر درمان‌های غیر جراحی پریدنتال بر بهبود وضعیت متابولیک این بیماران انجام گرفته است، اما مطالعات بسیار اندکی در زمینه‌ی تأثیر کمکی تغذیه به همراه این نوع درمان‌ها در دسترس است. بنابراین، مطالعه‌ی حاضر، با هدف تعیین اثر دریافت روزانه‌ی آب قره‌قاپ به همراه کیسول امگا ۳ (شامل EPA و DHA) و دریافت جداگانه‌ی هر کدام به همراه درمان غیر جراحی استاندارد پریدنتال در کنترل دیابت به منظور کاهش سطح HbA1c و قند خون ناشتا و نیز اصلاح پروفایل لیپیدی در بیماران مبتلا به دیابت دچار بیماری پریدنتال انجام گرفت.

روش‌ها

۴۱ بیمار شامل ۲۷ زن و ۱۴ مرد (با سن ۶۵-۳۵ سال) که بر اساس معیارهای تعیین شده‌ی سازمان جهانی بهداشت (۱)، مبتلا به دیابت نوع ۲ بودند و در عین حال، بیماری پریدنتال مزمن نیز داشتند، از درمانگاه غدد بیمارستان گلستان شهر اهواز برای این مطالعه انتخاب شدند.

معیارهای ورود به مطالعه شامل مرد یا زن در محدوده‌ی سنی ۳۵-۶۵ سال با گذشت حداقل ۵ سال از زمان تشخیص ابتلا به دیابت و بیماری پریدنتال متوسط با تشخیص توسط دندان‌پزشک بر اساس معیار عمق پاکت و عکس رادیوگرافی (۲) و شاخص توده‌ی بدنی (Body mass index یا BMI) در محدوده‌ی ۱۸/۵-۳۰/۰ کیلوگرم/مترمربع بودند.

معیارهای خروج از مطالعه عبارت از داشتن عوارض دیابت نیازمند به بستری، بیماری‌هایی که بر سطح هموگلوبین گلیکوزیله اثر می‌گذارد، مانند کم‌خونی، همودیالیز، هموگلوبینوپاتی، اورمی، بارداری و شیردهی، سفر بیش از ۲ هفته، سیگار کشیدن، سایر بیماری‌های جدی سیستمیک، تغییر قابل توجه در رژیم غذایی در ۶ ماه گذشته، تغییر قابل توجه در داروها و درمان دیابت، درمان پریدنتال حداقل در ۶ ماه گذشته، مصرف داروهای سرکوب کننده‌ی سیستم ایمنی و یا مکمل‌های غذایی و آنتی‌اکسیدانی بودند.

تأییدی اخلاق توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز با شماره‌ی مرجع NRC-9202: Ajums فراهم

بود (۱). دیابت و وضعیت سلامت پریدنتال، به شکل فیزیولوژیکی با هم در ارتباط هستند. مطالعات متعدد اپیدمیولوژیک، حاکی از آن است که دیابت، خطر بیماری پریدنتال مزمن پیش‌رونده را افزایش می‌دهد؛ همچنین، شواهدی وجود دارد که بیان می‌کند بیماری پریدنتال مزمن، ممکن است خطر بیماری دیابت را افزایش دهد (۲). بیماری پریدنتال، بیماری است که با خون‌ریزی از لثه حین پروب کردن، تحلیل بافت حمایت‌کننده‌ی دندان و لیگمان‌های پریدنتیت، تحلیل استخوان آلوئولار و پیشرفت در عمق پاکت (Pocket depth) همراه است که در نهایت منجر به از دست دادن دندان می‌شود (۳).

Culter و همکاران (۴) و معین تقوی و همکاران (۵) در مطالعات جداگانه، به بررسی ارتباط بین بیماری پریدنتال و بالا بودن چربی خون پرداختند و بیان کردند که بیماران مبتلا به بیماری پریدنتال، به طور قابل توجهی سطح بالاتری از تری‌گلیسرید و کلسترول خون دارند (۵-۴) و با توجه به این که چربی خون علت بیماری‌های قلبی-عروقی و مرگ و میر ناشی از آن است، مطالعات متعددی در ارتباط با بیماری پریدنتال و چربی خون انجام شده است. ماهی یا روغن ماهی غنی از اسید چرب امگا ۳، به خصوص دکوزاهگزانوئیک اسید (Docosahexaenoic acid یا DHA) و ایکوزاپنتانوئیک اسید (Eicosapentaenoic acid یا EPA) است که با مکانیسم‌های مختلفی باعث کاهش شدت بیماری التهابی مزمن می‌شود (۶).

مطالعه‌ای که در زمینه‌ی ارتباط بین تعداد دندان‌های موجود در دهان و دریافت غذایی انجام گرفت، نشان داد که مصرف غذاهای دریایی در افراد با تعداد دندان کمتر در مقایسه با افراد با تعداد دندان بیشتری، به طور قابل توجهی پایین‌تر است (۷). آنالیز نتایج مطالعه‌ی NHANES نشان داد که مصرف اسیدهای چرب امگا ۳ به خصوص ایکوزاپنتانوئیک اسید و دکوزاهگزانوئیک اسید، به طور معکوسی با بیماری پریدنتال در جمعیت آمریکایی در ارتباط است (۸). از این رو، یافتن ارتباط بین امگا ۳ و بیماری پریدنتال از جهت پی بردن به نقش بالقوه‌ی اصلاح رژیم غذایی در جلوگیری از فقدان دندان‌ها در بیماری پریدنتال و درمان این بیماری، حایز اهمیت است. طیف وسیعی از محصولات غذایی را می‌توان با امگا ۳ غنی کرد که در این مطالعه از آب میوه قره‌قاپ جهت غنی کردن با امگا ۳ استفاده شد.

قره‌قاپ (*Vaccinium arctostaphylos L.*)، گیاهی از تیره‌ی اریکاسه است که در ارتفاعات استان گیلان (ماسوله و اسالم)، ارتفاعات کلاردشت و اردبیل، خانقاه و کلیبر می‌روید. قره‌قاپ به صورت آب میوه، میوه تازه، میوه خشک شده و پودر اینکپسوله به مصرف می‌رسد. فیتوکمیکال‌ها در میوه قره‌قاپ، اثرات زیستی مفیدی بر سلامتی انسان دارد. این میوه، یکی از منابع غنی از ترکیبات

سانتی‌گراد در آزمایشگاه مرکز تحقیقات دیابت نگهداری گردید. غلظت قند خون ناشتا با استفاده از کیت آزمایشگاهی (پارس آزمون، ایران) به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شد. غلظت هموگلوبین گلیکوزیله با استفاده از کیت Nycocard با روش جذب فرابنفش (Ultraviolet یا UV) مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین، میزان کلسترول تام، HDL-C و High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) و تری‌گلیسیرید نیز با روش رنگ‌سنجی با کیت تجاری شرکت پارس آزمون با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شد. غلظت سرمی فرمول Friedewald محاسبه گردید. میانگین انرژی روزانه و دریافت درشت مغذی‌ها و ریز مغذی‌ها با استفاده از برنامه‌ی Nutrition 4 برآورد شد.

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد و این داده‌ها با استفاده از آزمون Paired t, One-way ANOVA و Univariate با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد آنالیز قرار گرفت و داده‌های دسته‌بندی شده، به صورت درصد توصیف شدند. $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

توزیع جنسی افراد مورد مطالعه شامل ۲۷ زن و ۱۴ مرد بود. میانگین سن در گروه شاهد، گروه دریافت‌کننده‌ی امگا ۳، گروه دریافت‌کننده‌ی آب قره‌قاپ و گروه دریافت‌کننده‌ی آب قره‌قاپ غنی شده با امگا ۳، به ترتیب 8 ± 5.2 ، 9 ± 6.0 ، 6 ± 5.7 و 6 ± 5.3 سال بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین سن افراد شرکت‌کننده در مطالعه در چهار گروه وجود نداشت. در طول مدت مطالعه، ۷ نفر به دلیل تغییر در نوع و دز داروهای مصرفی و همچنین، عدم تمایل به ادامه، از مطالعه خارج شدند و در نهایت، ۴۱ نفر مطالعه را به پایان رساندند. بر اساس ثبت غذایی ۳ روزه، تغییر معنی‌داری در دریافت انرژی، کربوهیدرات، پروتئین، چربی، کلسترول، برخی ریز مغذی‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سلنیم، ویتامین C، ویتامین E، ویتامین A و α توکوفرول در رژیم غذایی افراد در طول مطالعه مشاهده نشد. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، تفاوت معنی‌داری در غلظت قند خون ناشتا بعد از مداخله نسبت به ابتدای مداخله در بین چهار گروه نشان داده نشد. مقایسه‌ی درون گروهی این متغیرها، حاکی از آن است که میزان قند خون ناشتا قبل و بعد از مداخله در بین چهار گروه کاهش یافته بود، اما این کاهش معنی‌داری نبود. از طرف دیگر، میزان HbA1c در دو گروه امگا ۳ و گروه آب میوه‌ی

گردید. همچنین، رضایت‌نامه‌ی کتبی برای شرکت در مطالعه از تمام شرکت‌کنندگان در شروع مطالعه دریافت شد. بیماران به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند که این گروه‌ها شامل گروه شاهد (گروه C) که فقط درمان‌های غیر جراحی پریدنتال دریافت می‌کردند و سه گروه مداخله که علاوه بر درمان غیر جراحی پریدنتال، به ترتیب روزانه ۱ عدد کپسول امگا ۳ (Polyunsaturated fatty acids) یا PUFAs (DSM هلند حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم EPA و DHA، ۴۰۰ میلی‌لیتر آب قره‌قاپ ساخت شرکت تکدانه در دو نوبت در روز و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب قره‌قاپ غنی شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم امگا ۳ PUFAs (EPA و DHA) در دو نوبت در روز به مدت ۸ هفته دریافت می‌کردند.

درمان معمول پریدنتال برای تمام بیماران در ابتدای مطالعه شروع شد و بر حسب شدت بیماری، در هفته‌های بعد نیز انجام گردید که پس از ۱ ماه کامل شد. همچنین، تمام بیماران، ۲ ماه بعد از شروع مطالعه نیز توسط دندان‌پزشک متخصص تحت معاینه قرار گرفتند. درمان این بیماران شامل آموزش دستورالعمل‌های ویژه‌ی بهداشت دهان و دندان، توصیه به استفاده از دهانشویه و جرم‌گیری و تسطیح ریشه بود.

وزن با ترازوی عقربه‌ای با دقت ۱۰۰ گرم (Seca, Germany) و قد نیز با قدسنج (Seca, Germany) با دقت ۰/۵ سانتی‌متر بدون چادر و کت و کفش اندازه‌گیری شد. دور کمر (فاصله‌ی میانی آخرین دنده‌ی تحتانی و حاشیه‌ی بالای کمرست ایلیاک) و دور باسن (بزرگ‌ترین محیط) با استفاده از متر نواری و با حداقل پوشش در وضعیت ایستاده و با دقت ۰/۵ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. این شاخص‌ها، در ابتدا و انتهای مطالعه (هفته‌ی هشتم) تعیین گردید.

فرم ثبت غذایی سه روزه قبل و در انتهای مطالعه توسط افراد مورد مطالعه تکمیل گردید. نحوه‌ی تکمیل فرم ثبت غذایی با استفاده از کتاب آلبوم تصاویر مواد غذایی کامل شد. فرایند غنی‌سازی آب قره‌قاپ با امگا ۳ توسط شرکت کشت و صنعت تکدانه انجام شد و در ابتدا، این محصول به صورت پایلوت تولید گردید و بعد از چند روز نگهداری، محصول نهایی از نظر ارگانولپتیکی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز بررسی شد.

در ابتدا و انتهای مطالعه، از هر بیمار بعد از ۱۲ ساعت ناشتا بودن، ۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی گرفته شد. بخشی از نمونه‌های خون در لوله‌های فاقد ضد انعقاد جهت اخذ سرم و بخشی از آن در لوله‌های دارای مواد ضد انعقاد جمع‌آوری گردید. نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی مواد ضد انعقاد، برای ارزیابی هموگلوبین گلیکوزیله به یکی از آزمایشگاه‌های معتبر شهر اهواز فرستاده شد، اما سایر نمونه‌های خون بعد از سانتریفیوژ شدن در دمای ۸۰- درجه‌ی

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار شاخص‌های گلیسمیک و لیپید قبل و بعد از مداخله در ۴ گروه

متغیر	گروه شاهد (n = ۱۲)	گروه کپسول امگا ۳ (n = ۱۰)	گروه آب میوه‌ی قره‌قاپ (n = ۹)	گروه آب میوه‌ی غنی شده با امگا ۳ (n = ۱۰)	مقدار +P
قند خون ناشتا (mg/dl)	۱۸۹/۹ ± ۷۵/۵	۱۵۸/۰ ± ۷۵/۷	۱۴۸/۸ ± ۴۱/۸	۱۷۱/۵ ± ۶۶/۱	۰/۵۱
مقدار P*	۰/۲۸	۰/۱۳	۰/۸۹	۰/۳۸	---
HbA1c (%)	۶/۵ ± ۰/۸	۶/۸ ± ۱/۱	۶/۱ ± ۰/۵	۶/۳ ± ۰/۵	۰/۳۶
مقدار P*	۰/۵۳	۰/۰۱	۰/۱۷	۰/۰۱	---

* مقایسه‌ی میانگین ± انحراف معیار درون هر گروه با استفاده از آزمون Paired t؛ * مقایسه‌ی میانگین ± انحراف معیار بین چهار گروه با استفاده از آنالیز آماری Univariate

میزان HDL در هر چهار گروه افزایش نشان داد، اما این افزایش نیز معنی‌دار نبود. با استفاده از مقایسه‌ی دو به دو گروه‌ها، تفاوت معنی‌داری در میانگین غلظت HDL بعد از مداخله بین گروه آب میوه‌ی قره‌قاپ غنی شده با امگا ۳ و گروه مصرف‌کننده‌ی آب میوه‌ی قره‌قاپ و نیز گروه آب میوه‌ی قره‌قاپ غنی شده با امگا ۳ و گروه مصرف‌کننده‌ی امگا ۳ مشاهده شد که نشان‌دهنده‌ی این است که میانگین غلظت HDL گروه آب میوه‌ی قره‌قاپ غنی شده با امگا ۳ نسبت به گروه آب میوه‌ی قره‌قاپ و گروه امگا ۳، به ترتیب ۸/۸ و ۸/۴ میلی‌گرم/دسی‌لیتر بیشتر بود.

قره‌قاپ غنی شده با امگا ۳، به طور معنی‌داری کاهش یافته بود. همچنین، تفاوت معنی‌داری در غلظت HbA1c بعد از مداخله بین دو گروه شاهد و امگا ۳ مشاهده شد که بیانگر این مطلب است که میانگین HbA1c بعد از مداخله در گروه امگا ۳ به اندازه‌ی ۰/۴۸ درصد کمتر از گروه شاهد بوده است. غلظت تری‌گلیسیرید، کلسترول تام و LDL کلسترول در بین چهار گروه در بعد از مداخله تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). همچنین، مقایسه‌ی درون‌گروهی این متغیرها حاکی از آن بود که تری‌گلیسیرید، کلسترول تام و LDL بعد از مداخله در هر گروه کاهش یافته بود، اما این کاهش، معنی‌دار نبود.

جدول ۲. میانگین ± انحراف معیار پروفایل لیپید قبل و بعد از مداخله در ۴ گروه

متغیر	گروه شاهد (n = ۱۲)	گروه کپسول امگا ۳ (n = ۱۰)	گروه آب میوه‌ی قره‌قاپ (n = ۹)	گروه آب میوه‌ی قره‌قاپ غنی شده با امگا ۳ (n = ۱۰)	مقدار +P
تری‌گلیسیرید (mg/dl)	۱۴۰/۹۰ ± ۷۱/۴۰	۱۴۸/۲۰ ± ۵۷/۱۰	۱۵۸/۵۰ ± ۶۱/۲۰	۱۸۹/۵۰ ± ۱۱۹/۵۰	۰/۵۲
مقدار P*	۰/۰۷	۰/۶۶	۰/۴۹	۰/۱۸	---
کلسترول (mg/dl)	۱۷۹/۲۰ ± ۴۸/۴۰	۱۸۱/۷۰ ± ۳۰/۶۰	۱۷۶/۱۰ ± ۲۸/۰۳	۱۷۷/۲۲ ± ۴۴/۸۶	۰/۹۹
مقدار P*	۰/۳۸	۰/۴۰	۰/۹۸	۰/۴۳	---
HDL (mg/dl)	۴۶/۸۰ ± ۸/۵۰	۴۶/۴۰ ± ۱۱/۱۲	۴۰/۴۰ ± ۱۰/۸۰	۴۳/۰۰ ± ۶/۹۰	۰/۱۷
مقدار P*	۰/۰۷	۰/۷۴	۰/۵۷	۰/۰۶	---
LDL (mg/dl)	۱۰۰/۵۶ ± ۴۷/۸۲	۱۰۵/۲۶ ± ۳۶/۳۹	۱۰۸/۳۸ ± ۲۷/۴۹	۱۰۲/۹۷ ± ۴۰/۰۳	۰/۹۷
مقدار P*	۰/۲۲	۰/۴۶	۰/۶۶	۰/۳۲	---

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

* مقایسه‌ی میانگین ± انحراف معیار درون هر گروه با استفاده از آزمون Paired t؛ * مقایسه‌ی میانگین ± انحراف معیار بین چهار گروه با استفاده از آنالیز آماری Univariate

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، مشاهده گردید که مصرف ۸ هفته امگا ۳ و آب میوه‌ی قره‌قاپ غنی شده با امگا ۳، باعث کاهش قابل توجهی در HbA1c گردید که میزان کاهش در گروه مصرف کننده‌ی امگا ۳ نسبت به گروه شاهد معنی دار بود، اما کاهش معنی داری در میزان قند خون ناشتا مشاهده نشد.

مطالعه‌ی Li و Ou نشان داد که ۴ ماه بعد از درمان بیماری پرپروتال، سطح HbA1c در بیماران مبتلا به دیابت سالمند به طور معنی داری کاهش یافت (۱۰). همچنین، مطالعات دیگری نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند (۱۱). مکانیسم پیشنهادی برای این موضوع، ارتباط نزدیک بین عوامل التهابی و مقاومت انسولینی است. درمان بیماری پرپروتال با حذف میکروارگانیزم‌های پاتوژن، باعث کاهش التهاب می‌شود. در نتیجه، با کاهش غلظت سرمی عامل نکروزه کننده‌ی توموری (TNF- α یا Tumor necrosis factor- α)، مقاومت انسولینی کاهش، حساسیت به آن افزایش و سطح HbA1c کاهش می‌یابد که خود منجر به کاهش شدت التهاب می‌شود (۱۲). در مطالعه‌ی حاضر، سطوح TNF- α اندازه‌گیری نشد، اما توصیه می‌شود در مطالعات آینده، سطح این عامل التهابی نیز سنجیده شود.

مطالعه‌ی Wilson و همکاران، نشان داد که مصرف ۵۵ گرم قره‌قاپ خام بعد از دریافت غذا، با کاهش معنی داری در سطوح انسولین و قند خون در مقایسه با گروه شاهد در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ همراه است (۱۳). کمبود نسبی انسولین با منشأ داخلی به همراه اختلال در عملکرد آن، سبب افزایش تولید گلوکز کبدی و کاهش برداشت گلوکز توسط عضله به کمک انسولین، افزایش گلوکز در گردش خون و در نهایت، سبب بروز هایپرگلیسمی در حالت ناشتا می‌شود. مکانیسم‌های پیشنهادی حاصل از مطالعات برون‌زی و مدل‌های حیوانی پیرامون چاقی و دیابت، متذکر آن است که اثرات مکمل‌یاری با توت‌فرنگی و عصاره آنتوسیانین خالص شده بر تنظیم قند خون، شاید ناشی از مهار برداشت روده‌ای گلوکز، افزایش انتقال به بافت‌ها و مهار آنزیم‌های هضم کننده‌ی کربوهیدرات دریافتی به ویژه آلفا‌آمیلاز و آلفا‌گلیکوزیداز است (۱۴). نتایج حاصل از مطالعه‌ی Wilson و همکاران نیز تأیید کننده‌ی این مکانیسم است (۱۳).

Rodrigues و همکاران نیز به بررسی درمان غیر جراحی پرپروتال بر کنترل گلیسمیک در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ پرداختند. این محققان، همسو با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، دریافتند که درمان غیر جراحی بیماری پرپروتال، بعد از ۳ ماه با کاهش معنی داری در میزان غلظت HbA1c همراه بود، اما تغییر قابل توجهی در میزان قند خون ناشتا ایجاد نشد (۱۵).

در مطالعه‌ی شیدفر و همکاران، مشخص شد که دریافت

روزانه‌ی ۱ فنجان آب میوه‌ی قره‌قاپ به مدت ۱۲ هفته، باعث کاهش معنی داری در قند خون ناشتا در بیماران مبتلا به دیابت می‌شود (۱۶)، اما در مطالعه‌ی حاضر، کاهش معنی داری در قند خون ناشتا مشاهده نشد. با توجه به این که قند خون ناشتا تحت تأثیر عوامل متعددی قرار می‌گیرد و جهت استناد بیشتر به اثرات کاهنده‌ی امگا ۳ و آب قره‌قاپ، مطالعات مداخله‌ای با مدت زمان طولانی‌تر و حجم نمونه‌ی بیشتری نیاز است.

دیس‌لیپیدمی در اکثر بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ به دلیل اختلال در متابولیسم گلوکز و چربی شایع است. مقاومت انسولینی با کاهش فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز، کاهش حذف تری‌گلیسیرید و سطح پایین کلسترول HDL و افزایش فعالیت آنزیم لیپاز کبدی با تولید LDL کوچک‌تر و متراکم‌تر همراه است. از سوی دیگر، افزایش لیپولیز در دیابت نوع ۲ نیز منجر به هیپرتری‌گلیسیریدمی و کاهش حساسیت انسولینی می‌شود (۱۷).

بسیاری از مطالعات پیشنهاد می‌کنند که افراد مبتلا به بیماری پرپروتال در مقایسه با افراد سالم، در معرض خطر بالاتری از بیماری‌های قلبی-عروقی هستند. عفونت‌های حاد سیستمیک و یا مزمن، با ایجاد تغییراتی در غلظت سیتوکاین‌ها و هورمون‌ها همراه است که باعث تغییر در متابولیسم چربی‌ها می‌شود. همچنین، بیماری پرپروتال و تجمع باکتری‌های پاتوژن و اندوتوکسین‌ها در محل عفونت لته، باعث ایجاد واکنش‌های التهابی در بدن و رهایی سیتوکاین‌های التهابی مانند TNF- α و Interleukin-1B (IL-1B) می‌شود که خود می‌تواند متابولیسم چربی‌ها را تغییر دهد و منجر به هیپرتری‌گلیسیریدمی مزمن شود (۱۸).

مطالعه‌ی Memon و همکاران بر روی موش‌ها نشان داد که پرپروتیت ایجاد شده توسط لیپوپلی‌ساکارید باکتریال، منجر به افزایش سطح تری‌گلیسیرید می‌شود (۱۹). هر چه شدت بیماری پرپروتال بیشتر باشد، ارتباط آن با سطح کلسترول خون نیز بیشتر است. لیپوپلی‌ساکاریدهای باکتریایی پاتوژن، وارد گردش خون سیستمیک می‌شوند و از طریق فعالیت آنزیم هیدروکسی‌متیل‌گلوکاریل کوآنزیم A که کنترل کننده‌ی سرعت سنتز کلسترول است، ساخت کلسترول را افزایش می‌دهند (۱۹). در مطالعه‌ی حاضر، ۳۷ درصد از بیماران کلسترول تام بالا و ۴۱ درصد نیز تری‌گلیسیرید بالاتر از سطح طبیعی داشتند. بنابراین، انجام درمان‌های پرپروتال با کاهش اندوتوکسین‌ها، می‌تواند منجر به کاهش اثر آن بر متابولیسم چربی‌ها گردد. مطالعه‌ی بهرنیا و همکاران نشان داد که درمان بیماری پرپروتال با کاهش میزان چربی خون ارتباط دارد؛ میزان کاهش در کلسترول و تری‌گلیسیرید معنی دار بود، اما افزایش HDL و کاهش LDL معنی دار نبود (۲۰).

با تعیین اثربخشی دریافت مکمل امگا ۳ و آب قره‌قراط به عنوان یک آب میوه غنی از آنتی‌اکسیدان در بهبودی وضعیت پریودنتال توصیه می‌شود که مصرف غذاهای دریایی به عنوان منبع اسید چرب امگا ۳ و میوه و سبزی به عنوان منبع آنتی‌اکسیدان در جهت تقویت درمان‌های غیر جراحی بیماری پریودنتال در رژیم غذایی این بیماران گنجانده شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله، بخشی از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد تغذیه است که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، مرکز تحقیقات علوم کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و شرکت کشت و صنعت تکدانه انجام گردید. در خاتمه، از مرکز تحقیقات تغذیه و بیماری‌های متابولیک دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، مرکز تحقیقات دیابت این دانشگاه، کلبه‌ی کارکنان کلینیک غدد و متابولیسم بیمارستان گلستان و درمانگاه دندان‌پزشکی دانشگاه جندی‌شاپور اهواز تشکر و قدردانی می‌گردد.

در مطالعه‌ی Lee و همکاران با بررسی اثر عصاره‌ی قره‌قراط به مدت ۱۲ هفته بر پروفایل لیپیدی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲، نتایج نشان داد که عصاره‌ی قره‌قراط باعث کاهش معنی‌داری در میزان LDL و کلسترول تام شد، اما تغییر قابل توجهی در میزان LDL اکسید شده و کنترل گلیسمیک این بیماران مشاهده نشد (۲۱).

در مطالعه‌ی حاضر، افزایش معنی‌داری در غلظت HDL بعد از مداخله در گروه دریافت‌کننده‌ی آب میوه‌ی قره‌قراط غنی شده با امگا ۳ نسبت به دو گروه مصرف‌کننده‌ی امگا ۳ و گروه مصرف‌کننده‌ی آب میوه‌ی قره‌قراط مشاهده شد، اما کاهش معنی‌داری در سطوح سرمی کلسترول و تری‌گلیسیرید مشاهده نشد. نتایج مطالعه‌ی حاضر، با مطالعات بهرنیا و همکاران (۲۰) و نیز Lee و همکاران (۲۱) هم‌خوانی ندارد که این تفاوت ممکن است به دلیل سطوح نزدیک به طبیعی کلسترول و تری‌گلیسیرید در افراد مورد مداخله باشد. با این حال جهت دستیابی به نتایج بهتر، نیاز به مطالعات بیشتر با حجم بالاتر و مدت زمان بیشتر نیاز است.

References

- Oliver RC, Brown LJ, Loe H. Periodontal diseases in the United States population. *J Periodontol* 1998; 69(2): 269-78.
- Shlossman M, Knowler WC, Pettitt DJ, Genco RJ. Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. *J Am Dent Assoc* 1990; 121(4): 532-6.
- Preshaw PM, de Silva N, McCracken GI, Fernando DJ, Dalton CF, Steen ND, et al. Compromised periodontal status in an urban Sri Lankan population with type 2 diabetes. *J Clin Periodontol* 2010; 37(2): 165-71.
- Cutler CW, Shinedling EA, Nunn M, Jotwani R, Kim BO, Nares S, et al. Association between periodontitis and hyperlipidemia: Cause or effect? *J Periodontol* 1999; 70(12): 1429-34.
- Moeintaghavi A, Haerian-Ardakani A, Talebi-Ardakani M, Tabatabaie I. Hyperlipidemia in patients with periodontitis. *J Contemp Dent Pract* 2005; 6(3): 78-85.
- De Caterina R, Basta G. n-3 Fatty acids and the inflammatory response-biological background. *Eur Heart J Suppl* 2001; 3(Suppl D): D42-D49.
- Yoshihara A, Watanabe R, Nishimuta M, Hanada N, Miyazaki H. The relationship between dietary intake and the number of teeth in elderly Japanese subjects. *Gerodontology* 2005; 22(4): 211-8.
- Naqvi AZ, Buettner C, Phillips RS, Davis RB, Mukamal KJ. n-3 fatty acids and periodontitis in US adults. *J Am Diet Assoc* 2010; 110(11): 1669-75.
- Feghali K, Feldman M, La VD, Santos J, Grenier D. Cranberry proanthocyanidins: natural weapons against periodontal diseases. *J Agric Food Chem* 2012; 60(23): 5728-35.
- Ou L, Li RF. Effect of periodontal treatment on glycosylated hemoglobin levels in elderly patients with periodontal disease and type 2 diabetes. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124(19): 3070-3.
- Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995; 95(5): 2409-15.
- Dag A, Firat ET, Arıkan S, Kadiroglu AK, Kaplan A. The effect of periodontal therapy on serum TNF-alpha and HbA1c levels in type 2 diabetic patients. *Aust Dent J* 2009; 54(1): 17-22.
- Wilson T, Luebke JL, Morcomb EF, Carrell EJ, Leveranz MC, Kobs L, et al. Glycemic responses to sweetened dried and raw cranberries in humans with type 2 diabetes. *J Food Sci* 2010; 75(8): H218-H223.
- Manzano S, Williamson G. Polyphenols and phenolic acids from strawberry and apple decrease glucose uptake and transport by human intestinal Caco-2 cells. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54(12): 1773-80.
- Rodrigues DC, Taba MJ, Novaes AB, Souza SL, Grisi MF. Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontol* 2003; 74(9): 1361-7.
- Shidfar F, Heydari I, Hajimiresmaei SJ, Hosseini S, Shidfar S, Amiri F. The effects of cranberry juice on serum glucose, apoB, apoA-I, Lp(a), and Paraoxonase-1 activity in type 2 diabetic male patients. *J Res Med Sci* 2012; 17(4): 355-60.
- Kurpad A, Khan K, Calder AG, Coppack S, Frayn K, Macdonald I, et al. Effect of noradrenaline on glycerol turnover and lipolysis in the whole body and subcutaneous adipose tissue in humans in vivo. *Clin Sci (Lond)* 1994; 86(2): 177-84.
- Allen EM, Matthews JB, O'Connor R, O'Halloran D, Chapple IL. Periodontitis and type 2 diabetes: is

- oxidative stress the mechanistic link? *Scott Med J* 2009; 54(2): 41-7.
19. Memon RA, Staprans I, Noor M, Holleran WM, Uchida Y, Moser AH, et al. Infection and inflammation induce LDL oxidation in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(6): 1536-42.
20. Behfarnia P, Tavakoli AR. Influence of periodontal treatment on plasma levels of triglycerides, total cholesterol and its components. *J Isfahan Dent Sch* 2012; 7(5): 745-52. [In Persian].
21. Lee IT, Chan YC, Lin CW, Lee WJ, Sheu WH. Effect of cranberry extracts on lipid profiles in subjects with Type 2 diabetes. *Diabet Med* 2008; 25(12): 1473-7.

Impact of Cranberry Juice Enriched With Omega-3 and Their Individual Consumption Adjunct with Nonsurgical Periodontal Treatment on Glycemic Control and Lipid Profile in Patients with Diabetes Mellitus and Periodontal Disease

Ahmad Zare-Javid¹, Elnaz Ashrafzadeh², Hosein Babae³, Hojatallah Yousefimanesh⁴, Mehrnoosh Zakerkish⁵, Kambiz Ahmadi-Angali⁶, Gholamreza Asgari⁷

Short Communication

Abstract

Background: Periodontal disease, a common widespread chronic disease, is considered as an important complication in diabetes. The aim of this study was to evaluate the effects of cranberry juice enriched with omega-3 and their individual consumption on glycemic control and lipid profile in patients with diabetes mellitus and periodontal disease.

Methods: In this randomized clinical trial study, 41 patients with diabetes mellitus and chronic adult periodontal disease were randomly assigned to one group of control (n = 12) and three groups of intervention receiving omega-3 (n = 10), cranberry juice (n = 9), and cranberry juice enriched with omega-3 (n = 10) for 8 weeks. Nonsurgical periodontal therapy was provided for all the patients during the study. Fasting blood glucose, glycosylated hemoglobin A, and lipid profile were measured at baseline and at the end of the study.

Findings: There was significant reduction in glycosylated hemoglobin A observed in intervention groups of receiving omega-3 (11%, P = 0.017) and cranberry enriched with omega-3 (7%, P = 0.014). The intervention group receiving omega-3 had significantly lower glycosylated hemoglobin A compared with control group. Furthermore, the intervention group receiving cranberry juice enriched with omega-3 had significantly higher high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) than the other intervention groups. There were no significant differences found in fasting blood sugar (FBS), triglyceride (TG), total cholesterol and Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) between and within the groups.

Conclusion: It is suggested that consumption of cranberry juice enriched with omega-3 as a nutritional approach in adjunct with nonsurgical periodontal therapy may help to improve glycemic control and lipid profile in patients with diabetes mellitus and periodontal disease.

Keywords: Diabetes mellitus, Periodontal disease, Cranberry, Lipid Profile, Glycosylated hemoglobin A

Citation: Zare-Javid A, Ashrafzadeh E, Babae H, Yousefimanesh H, Zakerkish M, Ahmadi-Angali K, et al. **Impact of Cranberry Juice Enriched With Omega-3 and Their Individual Consumption Adjunct with Nonsurgical Periodontal Treatment on Glycemic Control and Lipid Profile in Patients with Diabetes Mellitus and Periodontal Disease.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(440): 919-26.

1- Assistant Professor, Nutrition and Metabolic Diseases Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

2- MSc Student, Department of Nutrition, School of Paramedicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Iran

3- Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

4- Assistant Professor, Department of Periodontology, School of Dentistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

5- Assistant Professor, Department of Endocrinology, Health Research Institute, Diabetes Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

6- Assistant Professor, Department of Biostatistics, School of Public Health AND Social Determinants of Research Center Health, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

7- Assistant Professor, Department of Nutrition, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Elnaz Ashrafzadeh, Email: elnazashrafzade@gmail.com

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
2. **Ali Akhavan** MD, Assistant Professor of Radiotherapy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3. **Mohammadreza Akhlaghi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, 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, Leuis Weil University, USA
7. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Majid Berekatain** MD, Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Ken Bassett** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
10. **Ahmad Chitsaz** MD, Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
11. **Afsoon Emami** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12. **Shahin Emami** Department of Biochemistry, Saint Antoine Hospital, Paris, France
13. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
14. **Faramarz Esmaeilbeigi** MD, Professor of Endocrinology, School of Medicine, California, USA
15. **Ahmad Esmaeilzadeh** PhD, Professor of Nutrition, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
16. **Ziba Farajzadegan** MD, Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
17. **Aziz Gahari** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
18. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Mostafa Hashemi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
20. **Saied Morteza Heidari** MD, Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
21. **Ali Hekmatnia** MD, Professor of Radiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
22. **Fariba Iraji** MD, Professor of Dermatology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
24. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics & Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
25. **Majid Kheirollahi** PhD, Associate Professor of Genetics and Molecular Biology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. **Parvin Mahzooni** MD, Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
27. **Marjan Mansourian** PhD, Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. **Mohammad Mardani** MD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
29. **Mehdi Modares** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
30. **Etiye Moghisi** MD, Professor of Endocrinology, Endocrine and Metabolism Research Center, USA
31. **Mohammadreza Nourbakhsh** PhD, Professor of Physiotherapy, Georgia, USA
32. **Farzin Pourfarzad** PhD, Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands
33. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
34. **Maryam Radahmadi** PhD, Assistant Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
35. **Hassan Razmju** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. **Reza Rouzbahani** MD, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
37. **Masih Saboori** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
38. **Mohammad Reza Safavi** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
39. **Rasoul Salehi** PhD, Assistant Professor of Genetics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. **Mansour Sholevar** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. **Mohammadreza Sharifi** MD, PhD, Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
42. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 35, No. 440, 4th Week September 2017

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

Associate Editor: **Maryam Radahmadi PhD**

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

Email: publications@mui.ac.ir

Office:

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

Tel/fax: +98 31 37922291

Email: jims@med.mui.ac.ir

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

Executive Manager: Ali Moradi, Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy Edit, Layout Edit, Proof Reading, Design, Print and Online Support:

FaRa Publishing House (Farzanegan Radandish)

Email: farapublications@gmail.com

<http://farapub.com>

Tel/fax: +98 31 32224382

Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexes

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

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

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