



مقاله های پژوهشی

- ۱۱۱۰ **کلونینگ، بیان و ارزیابی فعالیت اگزوتوکسین A نوترکیب سودوموناس آئروژینوزا**
 دکتر جهانگیر لنگری، دکتر مجید گل کار، دکتر حسین خان احمد، دکتر مرتضی کریمی پور، رقیه آرزومند، رمضان بهزادی، دکتر رضا آهنگری کهن
- ۱۱۱۹ **مطالعه ای بالینی ارتباط سندرم مقاومت به انسولین با پولیپ های آدنوماتوس کولون و رکتوم در افراد ۵۰ سال و بالاتر**
 دکتر احمد رضا همت، دکتر احمد سبحانی، زینب فلاح، دکتر زهرا ترابی، دکتر لطفاله فولادی، دکتر رحمت اله رفیعی
- ۱۱۲۹ .. **تأثیر ضد توموری کمپلکس های پالادیوم با مشتقات دی تیو کربوماتی بر روی ردهی سلولی سرطان مری (KYSE۳۰)**
 دکتر نوروز نجف زاده، شهرام هادی زاده، دکتر محمد مازنی، دکتر مجتبی امانی، دکتر حسن منصوری ترشیزی
- ۱۱۴۲ **آیا برنامه های باز توانی در زنان چاق مبتلا به بیماری قلبی مؤثرتر از گروه غیر چاق می باشد؟**
 دکتر جعفر گلشاهی، دکتر معصومه صادقی، فاطمه استکی قشقایی، دکتر حمیدرضا روح افزا، دکتر علی پورمقدس

مقاله کوتاه

- ۱۱۴۹ **بررسی تأثیر هیپوکلریت سدیم ۰/۰۲۵ درصد و بتادین ۱ درصد بر مدت ترمیم زخم سوختگی**
 فاطمه حدادی، دکتر سیما یادگاری، دکتر فریدون عابدینی

Original Articles

- Cloning, Expression and Evaluation of Pseudomonas Aeruginosa Exotoxin A** 1118
 Jahangir Langari, Majid Golkar PhD, Hossein Khanahmad PhD, Morteza Karimipoor PhD, Roghayeh Arezumand, Ramazan Behzadi, Reza Ahangari-Cohan PhD
- Clinical Studies Regarding Relation of Insulin Resistant Syndrome and Colorectal Polyps in People with 50 Years of Age and More** 1128
 Ahmad Reza Hemmat MD, Ahmad Sobhani MD, Zeynab Fallah, Zahra Torabi MD, Lotfollah Fouladi MD, Rahmatollah Rafiei MD
- Anticancer Effects of Palladium Complexes of Dithiocarbamate Derivatives on Esophageal Cancer Cell Line (KEYSE-30)** 1141
 Nowruz Najafzadeh PhD, Sharam Hadizadeh PhD, Mohammad Mazani PhD, Mojtaba Amani PhD, Hassan Mansouri Torshizi PhD
- Is Rehabilitation Program More Effective in Obese Women with Coronary Artery Disease?** 1148
 Jafar Golshahi MD, Masoumeh Sadeghi MD, Fatemeh Esteki Ghashghaei MSc, Hamidreza Roohafza MD, Ali Pourmoghaddas MD
- Short Communication**
- The Effect of Hypochlorite 0.025% and Povidine Iodine 1% on Burn Healing** 1155
 Fatemeh Hadadi MSc, Sima Yadegari MD, Fereidon Abedini MD



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۲۹۴)، بهمن سوم شهریور ۱۳۹۳

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

E-mail: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مسئول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱۱-۶۶۹۴۷۳۷

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

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

وب سایت مجله:

امور نشر:

(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)

شرکت فرزانتگان راداندیش

اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵

تلفن و دورنگار: ۰۳۱۱-۶۶۸۶۳۰۲

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

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

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

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

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

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

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

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

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

- ۱۱۱۰..... کلونینگ، بیان و ارزیابی فعالیت آگزوتوکسین A نو ترکیب سودوموناس آئروژینوزا.....
دکتر جهانگیر لنگری، دکتر مجید گل کار، دکتر حسین خان احمد، دکتر مرتضی کریمی پور، رقیه آرزومند، رمضان بهزادی، دکتر رضا آهنگری کهن
- ۱۱۱۹..... مطالعه‌ی بالینی ارتباط سندرم مقاومت به انسولین با پولیپ‌های آدنوماتوس کولون و رکتوم در افراد ۵۰ سال و بالاتر.....
دکتر احمد رضا همت، دکتر احمد سبحانی، زینب فلاح، دکتر زهرا ترابی، دکتر لطفاله فولادی، دکتر رحمت‌اله رفیعی
- ۱۱۲۹..... تأثیر ضد توموری کمپلکس‌های پالادیوم با مشتقات دی تیوکربوماتی بر روی رده‌ی سلولی سرطان مری (KYSE-۳۰).....
دکتر نوروز نجف‌زاده، شهرام هادی‌زاده، دکتر محمد مازنی، دکتر مجتبی امانی، دکتر حسن منصوری ترشیزی
- ۱۱۴۲..... آیا برنامه‌های بازتوانی در زنان چاق مبتلا به بیماری قلبی مؤثرتر از گروه غیر چاق می‌باشد؟.....
دکتر جعفر گلشاهی، دکتر معصومه صادقی، فاطمه استکی قشقایی، دکتر حمیدرضا روح‌افزا، دکتر علی پورمقدس

مقاله کوتاه

- ۱۱۴۹..... بررسی تأثیر هیپوکلریت سدیم ۰/۰۲۵ درصد و بتادین ۱ درصد بر مدت ترمیم زخم سوختگی.....
فاطمه حدادی، دکتر سیما یادگاری، دکتر فریدون عابدینی

کلونینگ، بیان و ارزیابی فعالیت اگزوتوکسین A نوترکیب سودوموناس آئروژینوزا

دکتر جهانگیر لنگری^۱، دکتر مجید گل کار^۲، دکتر حسین خان احمد^۳، دکتر مرتضی کریمی پور^۴،
رقیه آرزومند^۵، رمضان بهزادی^۶، دکتر رضا آهنگری کهن^۷

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: امروزه در بسیاری از مطالعات مربوط به درمان سرطان‌های مختلف، از هدفمند نمودن ترکیبات سمی علیه سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود. یکی از این ترکیبات بسیار مؤثر، اگزوتوکسین A سودوموناس می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی بیان و تخلیص و ارزیابی فرم کوتاه شده‌ای از این توکسین در سیستم بیانی پروکاریوتی بود.

روش‌ها: در ابتدا توالی فرم کوتاه شده‌ی توکسین (PE۳۸) با استفاده از پرایمرهای دارای جایگاه برش آنزیمی HindIII و NdeI از روی وکتور pUC-۵۷ حاوی این ژن تکثیر شد. بعد از برش آنزیمی، داخل وکتور pET-۲۶b خطی شده با این آنزیم‌های برشی کلون گردید. ارزیابی و تأیید ساختار وکتور نوترکیب به وسیله‌ی هضم آنزیمی و تعیین توالی، مورد بررسی قرار گرفت. وکتور نوترکیب به داخل باکتری‌های BL۲۱(DE۳)، Rosetta و BL۲۱(DE۳)plysS ترانسفورم شد و بعد از بیان و تخلیص توکسین، ارزیابی عملکرد آن در سلول‌های یوکاریوتی HUVEC و KDR۲۹۳ انجام شد.

یافته‌ها: توالی ژن توکسین با موفقیت تکثیر گردید و با هضم آنزیمی و تعیین توالی صحت کلونینگ اثبات گردید. وکتور نوترکیب در E. coli (Escherichia coli) بیان و به وسیله‌ی توالی هیستیدینی با موفقیت تخلیص گردید. در نهایت، توکسیسیتی توکسین تخلیص شده توسط آزمایش MTT (۵,۲-diphenyltetrazolium bromide)-(۳-(۵,۴-Dimethylthiazol-۲-yl)-۵,۴-Dimethylthiazol-۲-yl) بر روی دو رده‌ی سلول یوکاریوتی KDR۲۹۳ و HUVEC مورد بررسی قرار گرفت.

نتیجه‌گیری: با توجه به ساخت موفقیت‌آمیز وکتور نوترکیب pET-۲۶b-PE۳۸ و ترانسفورم آن به داخل سلول‌های پروکاریوتی، میزان بیان در سلول‌های مختلف E. coli متفاوت بود؛ به گونه‌ای که میزان بیان آن در BL۲۱(DE۳) بیشتر بود. از آن جایی که قسمت اتصال توکسین در فرم کوتاه شده وجود ندارد، بنابراین در ارزیابی سلولی بر اساس مطالعه‌ی قبلی، دوز کشندگی آن بیش از هزار برابر بیشتر از نوع هدفمند شده‌ی آن با عامل رشد عروقی VEGF۱۲۱ می‌باشد.

واژگان کلیدی: اگزوتوکسین A سودوموناس آئروژینوزا، PE۳۸، کلونینگ، بیان

ارجاع: لنگری جهانگیر، گل کار مجید، خان احمد حسین، کریمی پور مرتضی، آرزومند رقیه، بهزادی رمضان، آهنگری کهن رضا. کلونینگ، بیان و

ارزیابی فعالیت اگزوتوکسین A نوترکیب سودوموناس آئروژینوزا. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۴): ۱۱۱۸-۱۱۱۰

۱- دانشجوی دکتری، گروه بیوتکنولوژی دارویی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۲- استادیار، بخش انگل‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

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

۴- استادیار، بخش پزشکی مولکولی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۵- دانشجوی دکتری، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۶- کارشناس، انستیتو پاستور ایران، واحد شمال، آمل، ایران

۷- استادیار، بخش فرانس هاری، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

مقدمه

اگزوتوکسین A سودوموناس آئروژینوزا (PE) یک پروتئین باکتریایی تک زنجیره‌ی ۶۶ KDa می‌باشد که سلول‌های یوکاریوتی را با ADP-ریبوزیله کردن عامل ۲ یوکاریوتی (EF-۲) مهار می‌کند (۱). مطالعات کریستالوگرافی به وسیله‌ی اشعه ایکس، سه دومین ساختاری برای این توکسین مشخص کرده است: دومین I یا دومین اتصال به گیرنده که شامل اسیدهای آمینه‌ی ۱-۲۵۲ و ۳۶۵-۴۰۴ می‌باشد، دومین II یا دومین انتقالی که شامل اسیدهای آمینه‌ی ۲۵۳-۳۶۴ می‌باشد و دومین III یا دومین آنزیمی که شامل اسیدهای آمینه‌ی ۴۰۵-۶۱۳ می‌باشد (۴-۱).

فعالیت سیتوتوکسیسیته‌ی اگزوتوکسین مربوط به دومین آنزیمی آن می‌باشد که سنتز پروتئین را از طریق ADP-ریبوزیله کردن EF-۲ مهار می‌کند. با ایجاد تغییرات ژنتیکی روی PE می‌توان از آن به عنوان یک ترکیب ضد سرطانی استفاده نمود. محققان دومین اتصال توکسین را با آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه کانسرهای مختلف جایگزین می‌نمایند. هنگامی که آنتی‌بادی به گیرنده‌های سلول‌های سرطانی متصل می‌شود، توکسین وارد سلول می‌شود و آن‌ها را از بین می‌برد. PE^{۳۸}KDEL فرم کوتاه شده‌ای از اگزوتوکسین می‌باشد که دومین Ia (اسیدهای آمینه‌ی ۱-۲۵۲) آن و قسمتی از دومین Ib (اسیدهای آمینه‌ی ۳۶۵-۳۸۰) حذف شده است. همچنین برای کارایی بهتر توکسین در داخل سیتوزول سلول‌های یوکاریوتی، اسیدهای آمینه‌ی انتهایی کربوکسی (اسیدهای آمینه‌ی ۶۰۹-۶۱۳) که توالی REDLK نام دارد، نیز با توالی KDEL جایگزین شده است.

در این مطالعه نشان داده شد که توکسین PE^{۳۸}KDEL در باکتری اشرشیاکلی با قرار گرفتن در وکتور pET-۲۶b تحت پروموتور TV پلیمراز بیان می‌شود. بیان این پروتئین نوترکیب به صورت انکلوژن بادی بود و به وسیله‌ی کروماتوگرافی افینیتی نیکل تخلیص گردید.

روش‌ها

ساخت پلاسمید نوترکیب

از وکتور نوترکیب pUC۵۷-VEGF-PE^{۳۸} به عنوان الگو جهت انجام PCR (Polymerase chain reaction) استفاده گردید. واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی شده‌ی زیر با پروتکل دمایی ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۵ سیکل ۹۵°C به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۰°C به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲°C به مدت یک دقیقه و یک سیکل نهایی ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد:

Primer PE^{۳۸} forward (باز ۴۹):

GAGACATATGCATCATCATCATCATCAT
GGTGGAAAGCCTGGCCGCGCTG

Primer PE^{۳۸} reverse (باز ۳۴):

GAGAAAGCTTTCATTATAACTCGTCCTT
CGGCGG

قطعه‌ی تکثیر شده به وسیله‌ی کیت استخراج از ژل (Thermo scientific) خالص‌سازی گردید. همزمان با آن وکتور pET-۲۶b با آنزیم‌های NdeI و HindIII (Thermo scientific) خطی شد. در نهایت، قطعه‌ی تکثیر شده به داخل وکتور خطی شده توسط آنزیم T^۴ لیگاز متصل گردید. سپس به روش استاندارد شوک گرمایی (۵) به داخل سلول‌های TOP1۰ ترانسفورم گردید. کلنی‌های به

القا، روی ژل SDS-PAGE ۱۲ درصد اعمال گردید.

حذف ناخالصی از انکلوژن بادی توکسین

ابتدا ۳ پلت ۱ ml از کشت شبانه‌ی باکتری تهیه شد و دو بار با ۵۰۰ µl بافر (۱۰ mM Tris-Cl, ۴ mM EDTA یا Ethylenediaminetetraacetic acid, pH = ۵) شستشو داده شد. پلت نهایی در ۳۰۰ µl بافر (۱۰ mM Tris-Cl, ۳۰ mM NaCl, ۴ mM EDTA, pH = ۵) حل شد و سپس سونیکه و سانتریفیوژ گردید. سپس پلت‌های حاصل در ۳۰۰ µl بافر حاوی Triton X-۱۰۰ با غلظت ۳ درصد (۳ درصد Triton X-۱۰۰, ۴ mM EDTA, ۱۰ mM Tris-Cl) سوسپانسیون شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق مخلوط شد. بعد از سانتریفیوژ در ۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه، سوپ رویی برداشته شد. سپس پلت‌های باقی مانده در ۳۰۰ µl بافر حاوی اوره (۲ M Urea, ۳۰ mM NaCl, ۴ mM EDTA, pH = ۵) حل شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق مخلوط و سانتریفیوژ گردید. در ادامه، پلت‌ها دوباره در ۱۰۰۰ µl بافر (۱۰ mM Tris-Cl و ۴ mM EDTA) حل و سانتریفیوژ شد و سوپ رویی برداشته شد. سپس تمام نمونه‌ها بر روی ژل SDS-PAGE ۱۲ درصد اعمال گردید.

تخلیص انکلوژن بادی

انکلوژن بادی شستشو داده شده در مرحله‌ی قبل، در بافر باین‌دینگ (۸ M Urea, ۵۰۰ mM NaCl, ۵۰ mM Tris-Cl, ۵ mM Imidazole, ۵ mM ۲-ME, pH = ۷/۲) حل و به مدت ۲-۳ ساعت در دمای اتاق مخلوط شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی به

دست آمده به روش Colony PCR غربالگری شد. در نهایت، از کلنی‌های مثبت، استخراج پلاسمید انجام شد. پلاسمید نوترکیب حاصل به روش هضم آنزیمی با آنزیم‌های NdeI و HindIII و تعیین توالی DNA تأیید گردید.

بیان توکسین در باکتری E.coli

وکتور نوترکیب بیانی pET۲۶b-PE۳۸ به باکتری‌های BL۲۱(DE۳)plysS, BL۲۱(DE۳) Rosetta با روش کلسیم کلراید ترانسفرم گردید. سلول‌های ترانسفرم شده بر روی پلیت‌های کانامایسین دار پخش گردید و سپس این پلیت‌ها به مدت یک شب در انکوباتور ۳۷°C LB ۴ ml به یک کلنی به هر پلیت، یک کلنی با (Lysogeny broth) حاوی آنتی‌بیوتیک کانامایسین با غلظت ۲۵ µg/ml اضافه گردید و در OD_{۶۰۰} (Optical density در ۶۰۰ nm) کمتر از ۰/۵ با IPTG (Isopropyl β-D-۱-thiogalactopyranoside) با غلظت نهایی ۰/۳ mM القا گردید و شبانه در ۳۷°C با دور ۱۲۰ rpm انکوبه شد. سپس پلت ۱ ml (نمونه‌ی بعد القا) از تمام کشت‌ها تهیه شد. در ادامه، نمونه‌های قبل و بعد القا بر روی ژل SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate- polyacrylamide gel electrophoresis) ۱۲ درصد الکتروفورز شد.

بررسی محلول یا نامحلول بودن پروتئین بیان شده

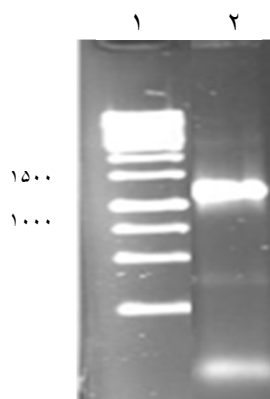
برای تشخیص محلول یا نامحلول بودن PE۳۸، پلت حاصل از ۱ ml کشت شبانه‌ی باکتری در ۱۰۰ µl بافر PBS (Phosphate buffered saline) حل و سونیکه گردید. سپس به مدت ۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. سوپ و پلت آن از هم جدا گردید و با بافر لودینگ مخلوط شد. بعد از ۵ دقیقه جوشاندن به همراه نمونه‌ی قبل القا و نمونه‌ی بعد

ادامه، میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای به انکوباتور منتقل و بعد از ۷۲ ساعت، ۳۰ μl از محلول MTT (۵ mg/ml) به هر یک از چاهک‌ها اضافه گردید و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. در مرحله‌ی بعد، محلول رویی خالی گردید و مقدار ۱۰۰ μl از محلول DMSO (Dimethyl sulfoxide) به هر یک از چاهک‌ها اضافه گردید. بعد از حل کردن کریستال‌های فورمازان تشکیل شده، جذب نمونه در طول موج ۵۷۰ nm خوانده شد.

یافته‌ها

ساخت سازه‌ی pET۲۶b-PE۳۸

PCR ژن PE۳۸ بر روی وکتور حاوی آن با استفاده از پرایمرهای مورد نظر انجام گرفت و همان‌طور که در شکل مشخص شده است، محصولی در حدود ۱۱۰۰ جفت بازی تکثیر شده است (شکل ۱).



شکل ۱. الکتروفورز ژل آگاروز محصول PCR (Polymerase chain reaction) ژن E۳۸. ستون ۱: نشانگر ۱ Kb شرکت Fermentas. ستون ۲: باند محصول PCR

محصول PCR ژن PE۳۸ هضم شده با آنزیم‌های مربوط به داخل وکتور بیانی pET-۲۶b کلون گردید

روی ستون نیکل (Qiagen) از قبل آماده‌سازی شده منتقل و از آن عبور داده شد. ستون با بافرهای شستشوی ۱ (۴ M Urea، ۵۰۰ mM NaCl، ۱۰ mM Tris-Cl، ۱۰۰ Triton X، ۲-ME ۵ mM، pH = ۷/۲) و شستشوی ۲ (۲ M Urea، ۵۰۰ mM NaCl، ۵۰ mM Tris-Cl، ۱۵ mM Imidazole، ۲-ME ۵ mM، pH = ۷/۲) و شستشوی ۳ (۲ M Urea، ۵۰۰ mM NaCl، ۵۰ mM Tris-Cl، ۲۰ mM Imidazole، ۲-ME ۵ mM، pH = ۷/۲) شستشو داده شد و به وسیله‌ی بافر Elution

(۵ M Urea، ۵۰۰ mM NaCl، ۵۰ mM Tris-Cl، ۵۰۰ mM Imidazole، ۵ mM ۲-ME، pH = ۷/۲) تخلیص گردید.

ارزیابی *In vitro*

از جمله آزمایش‌هایی که برای ارزیابی اثر ترکیبات بر روی سلول‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، روش MTT (۳-(۴،۵-Dimethylthiazol-۲-yl)-۵،۲-) در این آزمایش، بعد از افزودن ترکیب مورد نظر به سلول، میزان حیات کشت سلولی سنجیده می‌شود. بنابراین در این مطالعه نیز از این آزمایش برای ارزیابی توکسین استفاده شد. در این روش، ۸۰۰۰ سلول KDR (SBT۰۲۱-۲۹۳، USA) و ۱۰۰۰۰ سلول HUVEC (ATCC No.CRL-۱۷۳۰) به داخل چاهک‌ها اضافه گردید و با محیط کشت به حجم ۲۰۰ μl رسانده شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در انکوباتور ۳۷ °C دارای CO_۲، توکسین تخلیص شده در غلظت‌های متفاوت از ۱۰۰۰۰-۰/۰۱ nM به چاهک‌ها اضافه گردید. در

ارزیابی پروتئین PE₃₈

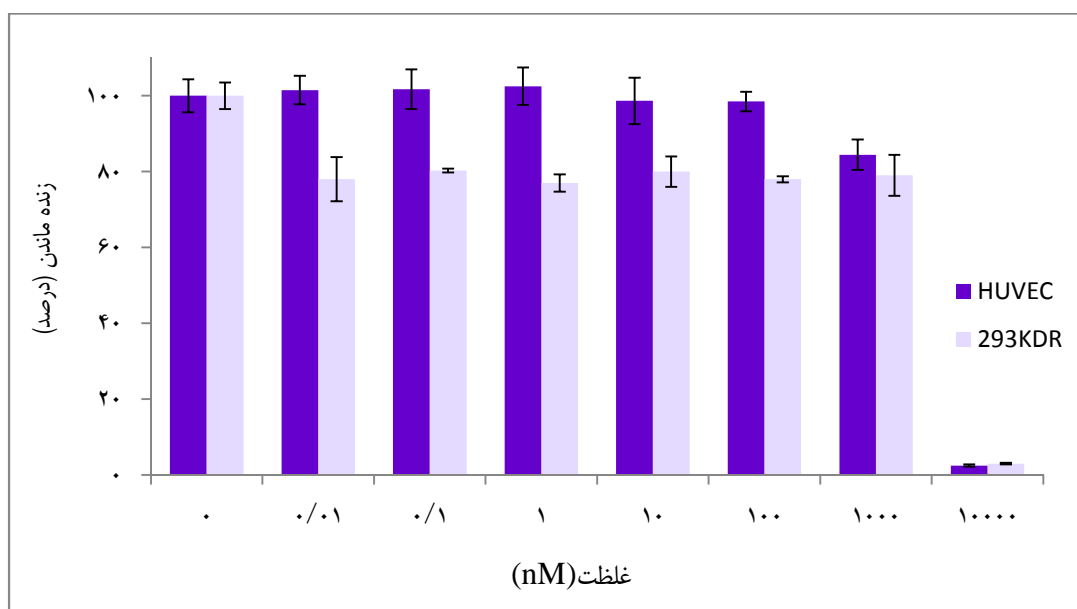
غلظت‌های متفاوتی از پروتئین PE₃₈ بر روی دو رده‌ی سلولی HUVEC و 293KDR اثر داده شد که در هر دو مورد IC₅₀ به دست آمده بالاتر از 1000 nM بود (شکل ۶).

بحث

مطالعات کریستالوگرافی توکسین PE نشان داد که این توکسین از سه دومین ساختاری تشکیل شده است (۱) که هر یک از دومین‌ها عملکرد متفاوتی دارند (۲). دومین Ia (اسیدهای آمینه‌ی ۱-۲۵۲) دومین اتصالی به سلول است که توکسین به وسیله‌ی آن به گیرنده‌ی α_2 ماکروگلوبولین که در سطح بسیاری از سلول‌های طبیعی و سرطانی وجود دارد، متصل می‌شود. دومین II (اسیدهای آمینه‌ی ۲۵۳-۳۶۴) دومین انتقالی می‌باشد که توانایی انتقال انتهای کربوکسیلی توکسین (اسیدهای آمینه‌ی

۶۱۳-۲۸۰) به داخل سیتوزول را دارد (۲). دومین III (اسیدهای آمینه‌ی ۳۹۶-۶۱۳) دومین ADP (Adenosine diphosphate) ریپوزیله کننده می‌باشد که با ADP ریپوزیله کردن EF-2 باعث مهار سنتز پروتئین و در نهایت، مرگ سلولی می‌شود. دومین Ib عملکرد خاصی نداشته و می‌تواند بدون این که تأثیری در فعالیت توکسین داشته باشد، حذف گردید (۲).

مطالعات انجام شده در مورد ارتباط ساختار-عملکرد توکسین PE باعث ایجاد فرم‌های کوتاه شده‌ای از توکسین می‌گردد که امروزه برای ساخت ایمنوتوکسین‌ها استفاده می‌شود. PE₃₈ یک چنین فرم کوتاه شده‌ای از توکسین می‌باشد که در آن دومین Ia (اسیدهای آمینه‌ی ۱-۲۵۲) و قسمتی از دومین Ib (اسیدهای آمینه‌ی ۳۶۵-۳۸۰) حذف گردیده است. از آن جایی که دومین Ia در توکسین حذف شده است، مولکول نمی‌تواند به سلول متصل شود.



شکل ۶. اثر سمیت سلولی غلظت‌های متفاوت از پروتئین PE₃₈ بر روی دو رده‌ی سلولی HUVEC و 293KDR به روش MTT assay (۳-(۵,۴-Dimethylthiazol-۲-yl)-۵,۲-diphenyltetrazolium bromide)

اختصاصی این توکسین بر علیه سلول‌های مورد مطالعه توصیف نمود.

مطالعات مختلفی بر روی ایمنوتوکسین‌های دیگر نیز نشان داده است که این پروتئین می‌تواند پتانسیل خوبی در راستای اهداف درمانی داشته باشد؛ به گونه‌ای که در حال حاضر، چندین ایمنوتوکسین حاوی PE در کارآزمایی‌های بالینی در مراحل I-III قرار دارند (۱۰-۶). البته تمام این ایمنوتوکسین‌ها سندرم نشست عروقی را القا می‌کنند که این سندرم کارایی ایمنوتوکسین‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۲-۱۱).

بعضی مطالعات نشان داده‌اند که وجود توالی X(D)Y توکسین در بروز این پدیده مؤثر است (۱۳-۱۴). آن چه که در این مورد در این توکسین دیده می‌شود، وجود سه توالی X(D)Y شامل دو توالی GDL و یک توالی GDV در آن می‌باشد (۱۵). بنابراین گام بعدی در این زمینه، ایجاد موتاسیون‌های مختلف در این توالی‌ها در جهت کاهش و حتی حذف سندرم نشست عروقی با استفاده از پیش‌بینی فعالیت - ساختار به صورت *In silico* و ایجاد یک توکسین توانمندتر و مؤثرتر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت‌های مالی اداره‌ی آموزش (پایان‌نامه‌ی دانشجویی دکترای تخصصی) در بخش پزشکی مولکولی انستیتو پاستور ایران انجام شده است.

در PE³⁸KDEL اسیدهای آمینه‌ی انتهایی PE³⁸ کلوژن، بیان و ارزیابی فعالیت اگزوتوکسین A (۶۰۹-۶۱۳) در انتهای کربوکسیلی با اسیدهای آمینه‌ی KDEL جایگزین شده است که این باعث انتقال آسان‌تر ایمنوتوکسین‌ها به داخل سیتوزول و کارایی بهتر آن‌ها می‌گردد (۴). در مطالعه‌ی حاضر، بیان توکسین PE³⁸KDEL با استفاده از وکتور pET-26b بهینه شد. این پروتئین در این وکتور به صورت انکلوژن بادی بیان گردید که انکلوژن بادی‌ها بعد از شستشو به وسیله‌ی کروماتوگرافی اختصاصی نیکل تخلیص شدند. همچنین سیتوتوکسیسیته‌ی توکسین در سلول‌های HUVEC و KDR ۲۹۳ با آزمایش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که PE³⁸ در غلظت‌های بسیار بالاتر از ۱۰۰۰ nM می‌تواند برای این سلول‌ها سمی باشد. در حالی که در فرم‌های هدفمند شده با لیگاندها و آنتی‌بادی‌های مختلف می‌تواند در غلظت‌های بسیار کمتر برای سلول‌های سرطانی اثر سمی داشته باشد. وجود این اختلاف غلظت در شکل توکسین به تنهایی و شکل کانژوگه نشان می‌دهد که می‌توان این توکسین را به عنوان کاندیدای مناسبی جهت تولید ایمنوتوکسین‌ها بر علیه سلول‌های سرطانی استفاده نمود.

مقایسه‌ی غلظت‌های به دست آمده در این مطالعه با شکل متصل به عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF یا Vascular endothelial growth factor)، تفاوت بیش از ۱۰۰ برابری را نشان داد. تفاوت اثر مشاهده شده را می‌توان به نداشتن خاصیت سمیت

References

- Allured VS, Collier RJ, Carroll SF, McKay DB. Structure of exotoxin A of *Pseudomonas aeruginosa* at 3.0-Angstrom resolution. Proc Natl Acad Sci U S A 1986; 83(5): 1320-4.
- Hwang J, Fitzgerald DJ, Adhya S, Pastan I. Functional domains of *Pseudomonas* exotoxin identified by deletion analysis of the gene expressed in *E. coli*. Cell 1987; 48(1): 129-36.

3. Chaudhary VK, Xu YH, FitzGerald D, Adhya S, Pastan I. Role of domain II of Pseudomonas exotoxin in the secretion of proteins into the periplasm and medium by Escherichia coli. Proc Natl Acad Sci U S A 1988; 85(9): 2939-43.
4. Kreitman RJ, Pastan I. Importance of the glutamate residue of KDEL in increasing the cytotoxicity of Pseudomonas exotoxin derivatives and for increased binding to the KDEL receptor. Biochem J 1995; 307(Pt 1): 29-37.
5. Sambrook J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd ed. New York, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1989.
6. Pai LH, Wittes R, Setser A, Willingham MC, Pastan I. Treatment of advanced solid tumors with immunotoxin LMB-1: an antibody linked to Pseudomonas exotoxin. Nat Med 1996; 2(3): 350-3.
7. Pastan I. Immunotoxins containing Pseudomonas exotoxin A: a short history. Cancer Immunol Immunother 2003; 52(5): 338-41.
8. Kreitman RJ, Wilson WH, White JD, Stetler-Stevenson M, Jaffe ES, Giardina S, et al. Phase I trial of recombinant immunotoxin anti-Tac(Fv)-PE38 (LMB-2) in patients with hematologic malignancies. J Clin Oncol 2000; 18(8): 1622-36.
9. Kreitman RJ, Wilson WH, Bergeron K, Raggio M, Stetler-Stevenson M, Fitzgerald DJ, et al. Efficacy of the anti-CD22 recombinant immunotoxin BL22 in chemotherapy-resistant hairy-cell leukemia. N Engl J Med 2001; 345(4): 241-7.
10. Frankel AE, Neville DM, Bugge TA, Kreitman RJ, Leppla SH. Immunotoxin therapy of hematologic malignancies. Semin Oncol 2003; 30(4): 545-57.
11. Siegall CB, Liggitt D, Chace D, Tepper MA, Fell HP. Prevention of immunotoxin-mediated vascular leak syndrome in rats with retention of antitumor activity. Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91(20): 9514-8.
12. Baluna R, Vitetta ES. An in vivo model to study immunotoxin-induced vascular leak in human tissue. J Immunother 1999; 22(1): 41-7.
13. Baluna R, Rizo J, Gordon BE, Ghetie V, Vitetta ES. Evidence for a structural motif in toxins and interleukin-2 that may be responsible for binding to endothelial cells and initiating vascular leak syndrome. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96(7): 3957-62.
14. Smallshaw JE, Ghetie V, Rizo J, Fulmer JR, Trahan LL, Ghetie MA, et al. Genetic engineering of an immunotoxin to eliminate pulmonary vascular leak in mice. Nat Biotechnol 2003; 21(4): 387-91.
15. Siegall CB, Liggitt D, Chace D, Mixan B, Sugai J, Davidson T, et al. Characterization of vascular leak syndrome induced by the toxin component of Pseudomonas exotoxin-based immunotoxins and its potential inhibition with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Clin Cancer Res 1997; 3(3): 339-45.

Cloning, Expression and Evaluation of *Pseudomonas Aeruginosa* Exotoxin A

Jahangir Langari¹, Majid Golkar PhD², Hossein Khanahmad PhD³,
Morteza Karimipoor PhD⁴, Roghayeh Arezumand⁵, Ramazan Behzadi⁶,
Reza Ahangari-Cohan PhD⁷

Original Article

Abstract

Background: Nowadays, in many studies related to the treatment of various cancers, toxic compounds are targeted against cancer cells. One of the most effective compounds is *Pseudomonas* exotoxin A. The purpose of this study was to investigate the expression, purification, and in-vitro evaluation of a short form of the toxin in a prokaryotic expression system.

Methods: The short form of the toxin (PE38) was amplified via polymerase chain reaction (PCR) using primers containing HindIII and NdeI restriction enzyme sites from pUC57-PE38. The polymerase chain reaction product was digested and subcloned in the pET-26b expression vector. The expression vector was separately transformed into the BL21(DE3), BL21(DE3) pLys S and Rosetta Escherichia coli strains. Recombinant bacteria were cultured and induced and the resulted PE38 protein purified using metal affinity column chromatography. The toxicity effect of PE38 protein was assessed on HUVEC and 293KDR eukaryotic cells.

Findings: The gene was successfully cloned into the expression vector and the accuracy of construct was confirmed via restriction map analysis and sequencing. The expression was found more in BL21(DE3) than the other strains. The toxicity effect was observed at the same level for both HUVEC and 293KDR cells.

Conclusion: The lethal dose of truncated toxin is more than the previous study (1000-fold), where the targeted vascular endothelial growth factor (VEGF121) was fused to the truncated toxin.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A, PE38, Cloning, Expression

Citation: Langari J, Golkar M, Khanahmad H, Karimipoor M, Arezumand R, Behzadi R, et al. **Cloning, Expression and Evaluation of *Pseudomonas Aeruginosa* Exotoxin A.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(294): 1110-8

1- PhD Candidate, Department of Molecular Medicine, Biotechnology Research Centre, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Department of Parasitology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

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

4- Assistant Professor, Department of Molecular Medicine, Pasteur Institute of Iran, Amol, Iran

5- PhD Candidate, Department of Molecular Medicine, Pasteur Institute of Iran, Amol, Iran

6- Pasteur Institute of Iran, North Research Center, Amol, Iran

7- Assistant Professor, Department of Rabies, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Corresponding Author: Morteza Karimipoor PhD, Email: mortezakarimi@yahoo.com

مطالعه‌ی بالینی ارتباط سندرم مقاومت به انسولین با پولیپ‌های آدنوماتوس کولون و رکتوم در افراد ۵۰ سال و بالاتر

دکتر احمد رضا همت^۱، دکتر احمد سبحانی^۱، زینب فلاح^۲، دکتر زهرا ترابی^۳، دکتر لطفاله فولادی^۴،
دکتر رحمت‌اله رفیعی^۱

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مقاومت به انسولین، عبارت از عدم حساسیت بافت‌ها به برداشت گلوکز است. پولیپ‌های کولون و رکتوم بر مبنای هیستولوژی، خطر تبدیل به فرم بدخیم نئوپلاستیک دارد. یک سری عوامل خطر غیر قابل کنترل در پیدایش نئوپلاسم‌های کولون و رکتوم دخالت دارند و برخی از آن‌ها به طور نسبی یا کامل، قابل کنترل هستند، از جمله می‌توان به مقاومت به انسولین اشاره کرد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط مقاومت به انسولین با ابتلا به نئوپلاسم‌های کولون و رکتوم در افراد ۵۰ سال و بالاتر بود.

روش‌ها: این مطالعه به روش توصیفی-تحلیلی مقطعی بر روی ۲۰۰ بیمار ۵۰ سال و بالاتر با اندیکاسیون کلونوسکوپی انجام شد که عوامل خطری مانند سابقه‌ی فامیلی سرطان کولون یا ابتلا به سرطان، بیماری‌های التهابی روده، کم‌خونی، خونریزی رکتوم و غیره را نداشتند. BP (Blood pressure)، دور کمر (WC یا Waist circumference)، قد و وزن، HDL (High-density lipoprotein)، TG (Triglyceride)، FBS (Fasting blood sugar)، کلسترول و انسولین پلاسمای بیماران اندازه‌گیری شد و بعد کلونوسکوپی شدند و در صورت وجود ضایعه‌ی غیر طبیعی، نمونه به پاتولوژی ارسال شد. در انتها اطلاعات ثبت شده در فرم توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ آنالیز شد.

یافته‌ها: در افراد ۵۰ سال و بالاتر، افراد مبتلا به سندرم مقاومت به انسولین و فراوانی پولیپ‌های کولون و رکتوم بیشتر است ($P = 0/007$). میان افراد مبتلا به سندرم مقاومت به انسولین، افراد با قند خون ناشتای بالا و خانم‌های با HDL پایین و نیز سندرم متابولیک، با پولیپ‌های کولورکتال پیشرفته ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($P > 0/050$). اما مواردی مانند فشار خون بالا، سن، جنس، چاقی و هیپرتری‌گلیسریدمی ارتباط معنی‌داری با پولیپ‌های کولورکتال پیشرفته نداشتند ($P > 0/050$).

نتیجه‌گیری: فراوانی پولیپ‌های کولون و رکتوم و به خصوص نوع پیشرفته‌ی آن‌ها در افراد مبتلا به مقاومت به انسولین، افراد مبتلا به دیابت و افراد مستعد ابتلا به دیابت، بیشتر می‌باشد و به نظر می‌رسد که این گروه افراد، جهت پیشگیری از عوارض و مرگ و میر ناشی از کانسره‌های کولون و رکتوم باید در سنین پایین‌تری کلونوسکوپی شوند. هر چند لازم است در این زمینه مطالعات بیشتری انجام شود.

واژگان کلیدی: سندرم مقاومت به انسولین، سندرم متابولیک، پولیپ کولون و رکتوم

ارجاع: همت احمد رضا، سبحانی احمد، فلاح زینب، ترابی زهرا، فولادی لطفاله، رفیعی رحمت‌اله. مطالعه‌ی بالینی ارتباط سندرم مقاومت به انسولین با پولیپ‌های آدنوماتوس کولون و رکتوم در افراد ۵۰ سال و بالاتر. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۴): ۱۱۱۹-۱۱۲۸

۱- استادیار، گروه پزشکی داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف‌آباد، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف‌آباد، اصفهان، ایران

۳- پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- پاتولوژیست بالینی- تشریحی، آزمایشگاه دکتر فولادی، اصفهان، ایران

مقدمه

مقاومت به انسولین نقش مهم و اساسی در ایجاد سندرم متابولیک دارد. مقاومت به انسولین وضعیتی است که در آن حتی در صورت ترشح انسولین کافی به وسیله پانکراس، بافت‌ها قادر به برداشت گلوکز نیستند (۱). سندرم متابولیک مجموعه‌ای از اختلالاتی همچون چاقی شکم، اختلال در متابولیسم گلوکز و انسولین، دیس لیپیدی و پرفشاری خون می‌باشد که زمینه‌ساز بروز پولیپ‌های نئوپلاستیک کولورکتال، دیابت و بیماری‌های قلبی و عروقی می‌گردند. کشف و درمان این موارد می‌تواند از بروز و شیوع سرطان‌های کولورکتال بکاهد. یکی از راه‌های موجود در این زمینه، کلونوسکوپی می‌باشد که دقت آن در تشخیص پولیپ‌های کولورکتال و مراحل ابتدایی سرطان از بسیاری از روش‌های دیگر از جمله باریم انما بیشتر می‌باشد.

در حین کلونوسکوپی، در صورت مشاهده ضایعه‌ی مشکوک، امکان انجام بیوپسی از آن وجود دارد که تشخیص قطعی آن توسط بررسی‌های پاتولوژیک انجام می‌شود. کلونوسکوپی زمانی که با بررسی هیستوپاتولوژیکی همراه باشد، برای تشخیص پولیپ کولون و خصوصیات پاتولوژیک ضایعه بسیار حساس است. تشخیص زود هنگام و به موقع بیماری‌های کولورکتال از طریق کلونوسکوپی، می‌تواند منجر به افزایش طول عمر بیماران شود و نیز هزینه‌ی درمان آنان را به میزان قابل توجهی کاهش دهد (۲-۳).

مطالعات اپیدمیولوژیک منجر به کشف الگوی سنی، جنسی، اقتصادی، فرهنگی و ... بیماری در یک منطقه شده است که گروه‌های هدف را جهت

غربالگری و تشخیص و درمان زودرس و تقلیل معلولیت‌ها و هزینه‌ها هدایت می‌نماید. در بررسی علل اتیولوژیک ایجاد کانسر و پولیپ‌های کولورکتال، یک سری علل غیر قابل کنترل هستند و برخی به طور نسبی یا کامل قابل کنترل هستند، از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به مقاومت به انسولین و سندرم متابولیک اشاره کرد (۴-۵). به همین علت، تلاش برای شناسایی عوامل خطر شناسایی نشده‌ی این بیماری از اهمیت قابل توجهی برخوردار است، تا با شناخت و تلاش برای حذف آن‌ها از این سرطان کشنده پیشگیری شود.

با توجه به این که پولیپ کولورکتال، اغلب علامتی ندارد و کانسر کولورکتال بیماری کشنده‌ای است؛ هدف از انجام این مطالعه، بررسی ارتباط بالینی مقاومت به انسولین با ابتلا به پولیپ‌های کولورکتال در افراد ۵۰ ساله و بالاتر بود تا با شناسایی عوامل خطر و تشخیص به موقع پولیپ کولورکتال، مرگ و میر سرطان کولورکتال در جامعه کاهش یابد.

روش‌ها

این پژوهش یک مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی بود که در سال ۱۳۹۱ و پس از تأیید کمیته‌ی اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف‌آباد در بیمارستان دکتر شریعتی اصفهان به انجام رسید. مطالعه بر روی افراد ۵۰ ساله و بالاتر با اندیکاسیون کلونوسکوپی (با رضایت بیماران) انجام شد که عوامل خطری مانند سابقه‌ی فامیلی سرطان کولون یا ابتلا به سرطان، سابقه‌ی فامیلی جراحی کولون، بیماری‌های التهابی روده، کم خونی، کاهش وزن، خونریزی رکتوم و غیره را نداشتند.

به مجموعه‌ی اختلالات متابولیک گفته می‌شود که حداقل سه مورد از موارد زیر در افراد مشاهده شود:

- چاقی شکمی که در آقایان با دور کمر ≤ 102 cm و در خانم‌ها با دور کمر ≤ 88 cm مشخص می‌شود.
- تری‌گلیسیرید بالا (≤ 150 mg/dl) داشته یا بیمار تحت درمان داروهای کاهنده‌ی تری‌گلیسیرید باشد.
- HDL پایین (در آقایان > 40 mg/dl و در خانم‌ها > 50 mg/dl) داشته و یا تحت درمان برای HDL پایین باشند.

- فشار خون بالا ($\leq 130/85$ mmHg) داشته یا تحت درمان با داروهای ضد فشار خون باشند.
- قند خون ناشتای بالا (≤ 100 mg/dl) داشته یا تحت درمان برای افزایش قند خون باشند (۶-۷).

ارقام HOMA score IR (Homeostasis model)
 (assessment score insulin resistance) > 3 طبیعی و
 HOMA score IR ≤ 3 ، مقاومت به انسولین در نظر گرفته شد (۸). مقدار BMI (Body mass index) از فرمول تقسیم وزن (kg) بر مجذور قد (m^2) محاسبه شد. سپس اطلاعات افراد تحت مطالعه در برنامه‌ی Excel وارد شد و در نهایت در برنامه‌ی SPSS نسخه‌ی ۲۱ (version 21, SPSS Inc., Chicago, IL) با بهره‌گیری از آزمون‌های χ^2 و t آنالیز گردید. در آنالیز توصیفی نیز از شاخص‌های مرکزی، درصد و فراوانی استفاده شد و سطح معنی‌داری $P < 0/050$ در نظر گرفته شد. در ضمن، اطلاعات افراد مورد بررسی بدون ذکر نام آن‌ها وارد فرم‌های جمع‌آوری اطلاعات گردید و نزد پژوهشگران محفوظ ماند. لازم به ذکر است که محققین در تمامی مراحل این پژوهش، اصول عهدنامه‌ی Helsinki را در دستور کار خود قرار دادند.

با توجه به فرمول حجم نمونه، اختلاف شیوع پولیپ‌های کولورکتال در دو جامعه با و بدون مقاومت به انسولین در حدود ۲۰ درصد بود و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد و توان مطالعه‌ی ۸۰ درصد و دقت ۷ درصد، حجم نمونه معادل ۱۲۵ نفر برآورد گردید. جهت اطمینان بیشتر و ریزش احتمالی (خروج احتمالی برخی از بیماران از مطالعه) تعداد ۲۰۰ نفر مورد مطالعه قرار گرفتند.

BP (Blood pressure) سیستولی و دیاستولی، دور کمر (WC یا Waist circumference)، قد و وزن و در آزمایشگاه نیز HDL (High-density lipoprotein)، LDL (Low-density lipoprotein) TG، (Triglyceride) FBS (Fasting blood sugar)، کلسترول و انسولین سرم بیماران اندازه‌گیری شد.

افراد تحت مطالعه بعد از آمادگی لازم در بخش آندوسکوپی بیمارستان دکتر شریعتی با دستگاه کلونوسکوپی ویدئویی Pentax ساخت کشور ژاپن توسط فوق تخصص گوارش، کولونوسکوپی شدند و از ضایعات غیر طبیعی نمونه‌گیری شد و به بخش پاتولوژی فرستاده شدند. افرادی که پولیپ‌های آدنوماتوس داشتند، به عنوان نئوپلاسم‌های کولون و رکتوم در نظر گرفته شدند و به دو گروه با و بدون آدنوم‌های با پاتولوژی پیشرفته (Adenoma with advanced pathology) تقسیم شدند. افراد دارای آدنوم‌های با پاتولوژی پیشرفته (AAP) با ویژگی دارا بودن پولیپ بزرگ‌تر از ۱ cm، ساختار ویلوس، دیس پلازی شدید یا کارسینوم تعریف شدند.

سندرم متابولیک بر طبق برنامه‌ی آموزش کلسترول (ATPIII یا Adult treatment panel III)

یافته‌ها

تعداد کل مراجعین جهت کلونوسکوپی ۲۰۰ نفر بود که به علت عدم تکمیل آزمایش‌ها، این تعداد به ۱۶۵ نفر رسید و ۳۵ نفر از مطالعه خارج شدند. ۵۸ نفر (۳۵/۱۵ درصد) پولیپ آدنوماتوس داشتند. جدول ۱ خصوصیات دموگرافیک، جدول ۲ متغیرهای بیوشیمیایی و جدول ۳ خصوصیات پولیپ‌های آدنوماتوس افراد مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

از افراد مبتلا به مقاومت به انسولین، تعداد ۲۰ نفر (۱۲/۱۰ درصد) فاقد پولیپ آدنوم و تعداد ۲۳ نفر (۱۴/۰۰ درصد) دارای پولیپ آدنوم بودند. در تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون χ^2 بین آدنوم با مقاومت به انسولین ارتباط وجود داشت ($P = ۰/۰۰۷$). از افراد مبتلا با مقاومت به انسولین تعداد ۹ نفر (۱۵/۵۰ درصد) بدون AAP و تعداد ۱۴ نفر (۸/۵۰ درصد) دارای AAP بودند. نتایج آزمون χ^2 بین AAP و مقاومت به انسولین، ارتباط نشان داد ($P = ۰/۰۰۴$).

جدول ۱. خصوصیات دموگرافیک افراد مورد مطالعه

ویژگی	تعداد (درصد)
جنس	مرد (۳۸/۸۰) ۶۴
	زن (۶۱/۲۰) ۱۰۱
سن	۵۰-۸۱ سال (۹۶/۴۰) ۱۵۹
	۸۲-۹۵ سال (۳/۶۰) ۶
چاقی مرکزی	دارد (۶۳/۷۰) ۱۰۵
	ندارد (۳۶/۳۰) ۶۰
فشار خون بالا	دارد (۴۱/۸۰) ۶۹
	ندارد (۵۸/۲۰) ۹۶
BMI	≤ 30 (۲۷/۹۰) ۴۶
	> 30 (۷۲/۱۰) ۱۱۹
سندرم متابولیک	افراد دارای سندرم متابولیک (۴۳/۰۰) ۷۱
	افراد بدون سندرم متابولیک (۵۷/۰۰) ۹۴

BMI: Body mass index

جدول ۲. متغیرهای بیوشیمیایی افراد مورد مطالعه

ویژگی	تعداد (درصد)
قند خون ناشتا	بالا (۱۹/۴۰) ۳۲
	طبیعی (۸۰/۶۰) ۱۳۳
تری گلیسیرید	بالا (۴۸/۵۰) ۸۰
	طبیعی (۵۱/۵۰) ۸۵
HDL	پایین (۳۸/۷۰) ۶۴
	طبیعی (۶۱/۳۰) ۱۰۱
سندرم مقاومت به انسولین	مبتلا (۲۶/۱۰) ۴۳
	غیر مبتلا (۷۳/۹۰) ۱۲۲

HDL: High-density lipoprotein

جدول ۳. خصوصیات پولیپ‌های آدنوماتوس در افراد مورد مطالعه

ویژگی	تعداد (درصد)
پولیپ آدنوماتوس	دارد ۵۸ (۳۵/۱۵)
	ندارد ۱۰۷ (۶۴/۸۵)
محل پولیپ آدنوماتوس	رکتوم ۱۶ (۲۷/۵۸)
	سیگموئید ۲۰ (۳۴/۴۸)
	نازل ۱۱ (۱۸/۹۶)
	عرضی ۲۴ (۴۱/۳۸)
	صاعد ۹ (۱۵/۵۱)
	سکوم ۶ (۱۰/۳۴)
تعداد پولیپ آدنوماتوس	≥ 2 ۴۳ (۷۴/۱۳)
	< 2 ۱۵ (۲۵/۸۷)
پولیپ آدنوماتوس	HGD ۴۴ (۷۵/۸۶)
	LGD ۱۴ (۲۴/۱۴)
اندازه‌ی پولیپ آدنوماتوس (cm)	> 1 ۴۳ (۷۴/۱۳)
	≤ 1 ۱۵ (۲۵/۸۷)
پولیپ آدنوماتوس با ویلوس	۳ (۵/۱۷)
پولیپ آدنوماتوس بدون ویلوس	۵۵ (۹۴/۸۳)
پولیپ آدنوماتوس با AAP	۲۲ (۳۷/۹۴)
پولیپ آدنوماتوس بدون AAP	۳۶ (۴۲/۰۶)

HGD: High-grade dysplasia; LGD: Low-grade dysplasia

۱۰۱ نفر افراد ۸۱-۵۰ ساله‌ی مورد مطالعه ۶۱/۲۰ (درصد) بدون آدنوم و ۵۸ نفر ۳۵/۲۰ (درصد) دارای آدنوم بودند. افراد مورد مطالعه‌ی ۸۲-۹۵ ساله ۶ نفر ۳/۶۰ (درصد) بودند و هیچ کدام پولیپ آدنوم نداشتند. آزمون χ^2 میان بروز آدنوم و طیف سنی 23 ± 73 سال ارتباط نشان داد ($P = 0/591$). ۲۲ نفر با سن ۸۱-۵۰ سال ۱۳/۳۰ (درصد) بدون AAP و ۳۶ نفر ۲۱/۸۲ (درصد) دارای AAP بودند و هیچ یک از افراد ۸۲-۹۵ ساله پولیپ آدنوم نداشتند. آزمون χ^2 بین AAP با طیف سنی 23 ± 73 سال ارتباطی نشان نداد ($P = 0/937$).

از میان افراد با قند خون ناشتای بالا، تعداد ۱۶ نفر ۹/۷۰ (درصد) بدون آدنوم و تعداد ۱۶ نفر

از بین ۱۰۱ نفر زن مورد مطالعه ۷۰ نفر ۴۲/۴۰ (درصد) بدون آدنوم و ۳۱ نفر ۱۸/۸۰ (درصد) دارای آدنوم بودند و از بین ۶۴ نفر مرد مورد مطالعه، ۳۷ نفر ۲۲/۴۰ (درصد) بدون آدنوم و ۲۷ نفر ۱۶/۴۰ (درصد) دارای آدنوم بودند. نتایج آزمون χ^2 بین آدنوم با جنسیت ارتباط نشان نداد ($P = 0/132$).

از بین ۱۰۱ نفر زن مورد مطالعه ۱۶ نفر ۹/۷۰ (درصد) بدون AAP و ۱۵ نفر ۹/۱۰ (درصد) دارای AAP بودند. از بین ۶۴ نفر مرد مورد مطالعه، ۲۰ نفر ۱۲/۱۲ (درصد) بدون AAP و ۷ نفر ۴/۲۸ (درصد) دارای AAP بودند. نتایج آزمون χ^2 بین AAP با جنسیت ارتباط نشان نداد ($P = 0/132$).

بین AAP با چاقی مرکزی ارتباط نشان نداد. در افراد با TG بالا، تعداد ۴۶ نفر (۲۷/۹۰ درصد) بدون آدنوم و تعداد ۳۴ نفر (۲۰/۶۰ درصد) دارای آدنوم بودند. در تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون χ^2 بین TG بالا و آدنوم ارتباط وجود نداشت (P = ۰/۰۵۵). در افراد با TG بالا، تعداد ۱۹ نفر (۱۱/۱۵ درصد) بدون AAP و تعداد ۱۵ نفر (۹/۰۹ درصد) دارای AAP بودند. آزمون χ^2 بین TG بالا و AAP ارتباط نشان نداد (P = ۰/۲۴۸).

در بین خانم‌های با HDL پایین، تعداد ۳۵ نفر (۲۱/۲۰ درصد) بدون آدنوم و تعداد ۱۷ نفر (۱۰/۳۰ درصد) دارای آدنوم بودند. آزمون χ^2 بین آدنوم با HDL پایین ارتباط نشان نداد (P = ۰/۶۵۴). در بین آقایان با HDL پایین، تعداد ۵ نفر (۳/۰۰ درصد) بدون آدنوم و تعداد ۷ نفر (۴/۲۰ درصد) دارای آدنوم بودند. آزمون χ^2 بین آدنوم با HDL پایین ارتباط نشان نداد (P = ۰/۰۸۱). در بین خانم‌های با HDL پایین، تعداد ۷ نفر (۴/۲۰ درصد) بدون AAP و تعداد ۱۰ نفر (۶/۱۰ درصد) دارای AAP بودند. آزمون χ^2 بین HDL پایین و AAP ارتباط نشان داد (P = ۰/۰۳۵). در بین آقایان با HDL پایین، تعداد ۵ نفر (۳/۰۰ درصد) بدون AAP و تعداد ۲ نفر (۱/۲ درصد) دارای AAP بودند. آزمون χ^2 بین AAP با HDL پایین ارتباط نشان نداد (P = ۰/۵۸۶).

در افراد مبتلا به سندرم متابولیک، تعداد ۴۰ نفر (۲۴/۲۰ درصد) بدون آدنوم و تعداد ۳۱ نفر (۱۸/۸۰ درصد) دارای آدنوم بودند. بین سندرم متابولیک با آدنوم ارتباطی مشاهده نشد (P = ۰/۰۷۵). در افراد مبتلا به سندرم متابولیک، تعداد ۱۵ نفر

(۹/۷۰ درصد) دارای آدنوم بودند. آزمون χ^2 بین آدنوم با قند خون ناشتای بالا ارتباط نشان نداد (P = ۰/۰۰۵). در افراد دارای قند خون ناشتای بالا، تعداد ۱۰ نفر (۶/۰۶ درصد) بدون AAP و تعداد ۶ نفر (۳/۶۴ درصد) دارای AAP بودند. در آنالیز با آزمون χ^2 بین AAP و قند خون ناشتای بالا، ارتباط وجود داشت (P = ۰/۰۱۷).

در افراد با فشار خون بالا، تعداد ۴۱ نفر (۲۴/۸۰ درصد) بدون آدنوم و تعداد ۲۸ نفر (۱۷/۰۰ درصد) دارای آدنوم بودند. آزمون χ^2 بین فشار خون بالا و بروز آدنوم ارتباط نشان نداد (P = ۰/۲۱۶). در افراد با فشار خون بالا، تعداد ۱۷ نفر (۱۰/۳۰ درصد) بدون AAP و تعداد ۱۱ نفر (۶/۷۰ درصد) دارای AAP بودند. آزمون χ^2 بین فشار خون بالا و AAP ارتباط نشان نداد (P = ۰/۸۳۷).

در بین خانم‌های با چاقی مرکزی، تعداد ۵۶ نفر (۳۳/۹۰ درصد) بدون آدنوم و تعداد ۲۵ نفر (۱۵/۲۰ درصد) دارای آدنوم بودند. آزمون χ^2 بین آدنوم با چاقی مرکزی ارتباطی نشان نداد (P = ۰/۲۵۷). در بین آقایان با چاقی مرکزی، تعداد ۱۲ نفر (۷/۳۰ درصد) بدون آدنوم و تعداد ۱۲ نفر (۷/۳۰ درصد) دارای آدنوم بودند. آزمون χ^2 بین آدنوم با چاقی مرکزی ارتباط نشان نداد (P = ۰/۰۹۹). در بین خانم‌های با چاقی مرکزی، تعداد ۱۲ نفر (۷/۳۰ درصد) بدون AAP و تعداد ۱۳ نفر (۷/۹۰ درصد) دارای AAP بودند. در آنالیز با آزمون χ^2 بین AAP با چاقی مرکزی ارتباط وجود نداشت. در بین آقایان با چاقی مرکزی، تعداد ۸ نفر (۴/۹۰ درصد) بدون AAP و تعداد ۴ نفر (۲/۴۰ درصد) دارای AAP بودند. آزمون χ^2

پرداختند و دریافتند بین آنها پس از تغییر در مکانیسم طبیعی و تأثیر عوامل مداخله کننده می‌تواند رابطه‌ی معنی‌دار وجود داشته باشد.

در یک مطالعه‌ی مقطعی (Cross-sectional) توسط Kim و همکاران، ۱۶۵ نفر در گروه مورد (مبتلا به آدنوم) و ۳۶۵ نفر در گروه شاهد قرار گرفتند. این مطالعه نشان داد چاقی شکمی، خطر آدنوم کولورکتال را افزایش می‌دهد (۱۱). در مطالعه‌ی Macrae و Ahnen (۱۲) و نیز Macrae (۱۳)، احتمال بروز پولیپ‌های آدنوم در آقایان بیشتر از خانم‌ها برآورد شده است. این پژوهشگران، هر یک از عوامل سن فرد و چاقی را به تنهایی در افزایش خطر پولیپ‌های کولورکتال مؤثر ندانسته‌اند و معتقدند مجموعه‌ی عوامل خطر در یک فرد، خطر ایجاد پولیپ‌های کولورکتال و به دنبال آن کانسر کولورکتال را افزایش می‌دهند (۱۲-۱۳). اما در مطالعه‌ی حاضر، بین چاقی مرکزی با پولیپ‌های کولورکتال ارتباط معنی‌داری وجود نداشت و نیز میان سن فرد و چاقی (هر کدام به تنهایی) با پولیپ‌های کولورکتال ارتباط معنی‌داری وجود نداشت. به نظر می‌رسد مجموعه‌ی عوامل باید وجود داشته باشند تا سبب شود افراد به پولیپ‌های آدنوماتوس مستعد شوند. در یک مطالعه‌ی آینده‌نگر توسط Inoue و همکاران که بر روی ۹۷۰۰۰ ژاپنی انجام گرفت، ارتباط بین دیابت و سرطان در افراد بزرگسال بررسی گردید. محدوده‌ی سنی آنها ۴۰-۶۹ سال بود و مدت زمان پیگیری آنها ۱۳ سال بود. در بدو مطالعه، ۶/۷ درصد از مردان و ۳/۱ درصد از زنان به دیابت مبتلا بودند. در این مدت، ۶۴۶۲ مورد سرطان تشخیص داده شد. بررسی‌ها نشان داد که بروز کلی

(۹/۱۰ درصد) بدون AAP و تعداد ۱۶ نفر (۹/۷۰ درصد) دارای AAP بودند. بر اساس آزمون χ^2 ، بین سندرم متابولیک با AAP ارتباط مشاهده شد ($P = ۰/۰۱۲$).

در افراد با $BMI \geq 30$ تعداد ۲۸ نفر (۱۷/۰۰ درصد) بدون آدنوم و تعداد ۱۸ نفر (۱۰/۹۰ درصد) دارای آدنوم بودند. بین $BMI \geq 30$ با آدنوم ارتباطی مشاهده نشد ($P = ۰/۵۰۶$). در افراد با $BMI \geq 30$ تعداد ۱۳ نفر (۷/۹۰ درصد) بدون AAP و تعداد ۵ نفر (۳/۰۰ درصد) دارای AAP بودند. آزمون χ^2 بین $BMI \geq 30$ با AAP ارتباطی نشان نداد ($P = ۰/۲۸۶$).

بحث

در مطالعه‌ی حاضر بین مقاومت به انسولین با پولیپ‌های کولورکتال (آدنوماتوس) ارتباط معنی‌داری وجود داشت و نیز بین مقاومت به انسولین و پولیپ‌های آدنوماتوس پیشرفته‌ی کولورکتال (AAP) نیز ارتباط وجود داشت. Yoshida و همکاران بیان نمودند که سطح انسولین به طور معنی‌داری به حضور پولیپ‌های آدنوماتوس و پولیپ هیپرپلاستیک در کولون پروگزیمال وابسته است (۹). در ضمن، در مطالعه‌ی حاضر، یکی از اجزای مهم سندرم متابولیک (قند خون ناشتای بالا) با پولیپ‌های آدنوماتوس پیشرفته ارتباط معنی‌داری داشت و به نظر می‌رسد که در افراد مبتلا به دیابت یا دارای زمینه‌ی دیابت، عاملی مانند افزایش IGF-1 (Insulin-like growth factor-1) می‌تواند در شیوع کانسر کولورکتال دخیل باشد. Marugame و همکاران (۱۰) در ژاپن به بررسی رابطه‌ی اختلال در تحمل گلوکز و دیابت شیرین با آدنوم‌های کولورکتال

HDL پایین در پولیپ‌های کولورکتال پیشرفته مطالعات گسترده‌ای انجام شود.

در پایان می‌توان گفت در کسانی که مقاومت به انسولین دارند، شیوع پولیپ‌های پیشرفته و غیر پیشرفته‌ی کولورکتال بیشتر است و شیوع پولیپ‌های پیشرفته در افراد مبتلا به دیابت یا مستعد ابتلا به دیابت و سندرم متابولیک بیشتر است. پیشنهاد می‌شود که افراد دچار سندرم مقاومت به انسولین به جای شروع سن ۵۰ سال، از سنین پایین‌تری غربالگری شوند تا پولیپ‌های آدنوم و به خصوص AAP، با پولیکتومی برداشته شوند تا از پیدایش کانسر پیشرفته‌ی کولورکتال جلوگیری گردد؛ در مورد تعیین زمان مناسب‌تر غربالگری، مطالعات گسترده‌ای نیاز است.

تشکر و قدردانی

این مقاله از برگرفته از پایان‌نامه‌ی دکترای عمومی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف‌آباد می‌باشد. بدین‌وسیله از تمامی همکاران و شرکت‌کنندگان در مطالعه، قدردانی می‌گردد.

سرطان در مردان مبتلا به دیابت ۲۷ درصد بیشتر از جمعیت عمومی است و میزان خطر ۱/۲۷ به دست آمد. این خطر برای سرطان کولون ۱/۳۶ بود؛ به طوری که از ۴۹۱ مورد مبتلا به سرطان کولون، ۴۶ نفر دیابت داشتند (۱۴).

مطالعاتی دیگر توسط Morita و همکاران (۱۵) و Wang و همکاران (۱۶) در بررسی رابطه‌ی بین سندرم متابولیک و آدنوم کولورکتال انجام شد و بیماران مبتلا به دیابت، بهترین ارتباط را با سندرم متابولیک نشان دادند و نیز این ارتباط را در رابطه با آدنوم کولورکتال نیز نشان دادند. در مطالعه‌ی حاضر، سندرم متابولیک ارتباط با پولیپ کولورکتال نداشت، اما در فرم AAP ارتباط معنی‌داری داشت و به نظر می‌رسد که مجموعه‌ی اجزای سندرم متابولیک به نحوی در افزایش احتمال پیدایش AAP که احتمال سریع‌تر پیدایش کانسر کولورکتال را در پی داشته باشد، دخیل است. در مطالعه‌ی حاضر، قند خون ناشتای بالا و HDL پایین، با پولیپ‌های کولورکتال پیشرفته ارتباط داشت و لازم است در زمینه‌ی نقش

References

1. Moller DE, Flier JS. Insulin resistance--mechanisms, syndromes, and implications. *N Engl J Med* 1991; 325(13): 938-48.
2. Ransohoff DF. How much does colonoscopy reduce colon cancer mortality? *FREE. Ann Intern Med* 2009; 150(1): 50-2.
3. Baxter NN, Goldwasser MA, Paszat LF, Saskin R, Urbach DR, Rabeneck L. Association of colonoscopy and death from colorectal cancer. *Ann Intern Med* 2009; 150(1): 1-8.
4. Giovannucci E. Metabolic syndrome, hyperinsulinemia, and colon cancer: a review. *Am J Clin Nutr* 2007; 86(3): 836S-42S.
5. Komninou D, Ayonote A, Richie JP, Jr., Rigas B. Insulin resistance and its contribution to colon carcinogenesis. *Exp Biol Med* (Maywood) 2003; 228(4): 396-405.
6. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002; 106(25): 3143-421.
7. Hanson RL, Imperatore G, Bennett PH, Knowler WC. Components of the "metabolic syndrome" and incidence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51(10): 3120-7.
8. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28(7): 412-9.
9. Yoshida I, Suzuki A, Vallee M, Matano Y,

- Masunaga T, Zenda T, et al. Serum insulin levels and the prevalence of adenomatous and hyperplastic polyps in the proximal colon. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4(10): 1225-31.
10. Marugame T, Lee K, Eguchi H, Oda T, Shinchi K, Kono S. Relation of impaired glucose tolerance and diabetes mellitus to colorectal adenomas in Japan. *Cancer Causes Control* 2002; 13(10): 917-21.
11. Kim Y, Kim Y, Lee S. An association between colonic adenoma and abdominal obesity: a cross-sectional study. *BMC Gastroenterology* 2009; 9: 4.
12. Macrae FA, Young GP. The Neoplastic and non-neoplastic polyps of colon and rectum. In: Yamada T, Editor. *Textbook of Gastroenterology*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. p. 1883-910.
13. Ahnen D, Macrae F. Approach to the patient with colonic polyps [Online]. [cited 2014 Mar 25]; Available from: URL: <http://www.uptodate.com/contents/approach-to-the-patient-with-colonic-polyps>
14. Inoue M, Iwasaki M, Otani T, Sasazuki S, Noda M, Tsugane S. Diabetes mellitus and the risk of cancer: results from a large-scale population-based cohort study in Japan. *Arch Intern Med* 2006; 166(17): 1871-7.
15. Morita T, Tabata S, Mineshita M, Mizoue T, Moore MA, Kono S. The metabolic syndrome is associated with increased risk of colorectal adenoma development: the Self-Defense Forces health study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2005; 6(4): 485-9.
16. Wang YY, Lin SY, Lai WA, Liu PH, Sheu WH. Association between adenomas of rectosigmoid colon and metabolic syndrome features in a Chinese population. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20(9): 1410-5.

Clinical Studies Regarding Relation of Insulin Resistant Syndrome and Colorectal Polyps in People with 50 Years of Age and More

Ahmad Reza Hemmat MD¹, Ahmad Sobhani MD¹, Zeynab Fallah², Zahra Torabi MD³, Lotfollah Fouladi MD⁴, Rahmatollah Rafiei MD¹

Original Article

Abstract

Background: Insulin resistance is a condition in the form of the lack of sensitivity of the tissues for removing glucose. Colorectal polyps, with the histology basis, have the risk in transforming to the malignant neoplastic form. There are some uncontrollable risk-factors that influence the emergence colorectal neoplasms; though some of them are relatively controllable, among which the insulin resistance could be named. The aim of this investigation was analyzing the relation between insulin resistance and affecting to colorectal neoplasms in the people with 50 years of age or more.

Methods: This descriptive-analytic cross-sectional study was conducted on 200 patients with 50 years of age and more, with indications of colonoscopy and without the risk factors such as family history of colon cancer, intestinal inflammation, anemia, rectal bleeding and so on. Blood pressure, waist circumference, height and weight of patients were measured. The levels of high-density lipoprotein (HDL), fasting blood sugar (FBS), triglyceride (TG), and plasma insulin were measured and then, they underwent colonoscopy. In case of observing any abnormal disorders, the samples were sent for pathological controls. Finally, the recorded data were analyzed.

Findings: The frequency of colorectal polyps were more in patients with insulin resistance syndrome ($P = 0.007$). There were significant relations between people with insulin resistance syndrome, the people with raised fasting blood sugar, and the ladies with low HDL and metabolic syndrome with the adenoma with advanced pathology ($P < 0.05$); but no significant relation existed in cases of hypertension, age, sex, obesity and hypertriglyceridemia ($P > 0.05$).

Conclusion: This study shows that the frequency of colorectal polyps, especially with the advanced pathology, is more in the people with insulin resistance or diabetes mellitus or the people who are susceptible to diabetes. It is recommended for the mentioned patients to have investigations of colonoscopy in younger ages to prevent deaths due to colorectal cancer. It is also necessary to have more investigations in this regard.

Keywords: Insulin resistance syndrome, Metabolic syndrome, Colorectal polyp

Citation: Hemmat AR, Sobhani A, Fallah Z, Torabi Z, Fouladi L, Rafiei R. **Clinical Studies Regarding Relation of Insulin Resistant Syndrome and Colorectal Polyps in People with 50 Years of Age and More.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(294): 1119-28

1- Assistant Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Isfahan, Iran

2- Student of Medicine, School of Medicine, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Isfahan, Iran

3- General Practitioner, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Clinical Anatomical Pathologist, Dr. Fouladi Laboratory, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Rahmatollah Rafiei MD, Email: rahmatollahrafiei@yahoo.com

تأثیر ضد توموری کمپلکس‌های پالادیوم با مشتقات دی تیوکربوماتی بر روی ردهی سلولی سرطان مری (KYSE-۳۰)

دکتر نوروز نجف‌زاده^۱، شهرام هادی‌زاده^۲، دکتر محمد مازنی^۳، دکتر مجتبی امانی^۴، دکتر حسن منصوری ترشیزی^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: برای درمان بدخیمی‌ها می‌توان از روش‌های جراحی، پرتو درمانی، دارو درمانی و یا ترکیبی از این روش‌ها استفاده کرد. دارو درمانی در بیماران سرطانی شامل شیمی درمانی، بیوتراپی و استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال بر علیه برخی آنتی‌ژن‌های سلول بدخیم می‌باشد. از جمله ترکیباتی که به عنوان دارو در شیمی درمانی علیه سلول‌های بدخیم مورد استفاده قرار می‌گیرد، کمپلکس‌های فلزات سنگین می‌باشند و مطالعه‌ی حاضر نیز با هدف بررسی تأثیر ضد سرطانی کمپلکس‌های جدید پالادیوم بر روی ردهی سلولی سرطان مری انجام شد.

روش‌ها: کمپلکس‌های جدید پالادیوم به نام‌های $\mu-3,1$ - الکیلن بیس (دی‌تیوکربامات) بیس (۱،۱۰- فنانترویلین پالادیوم (II) نترات [که الکیلن می‌تواند پروپیلین (کمپلکس ۱)، بوتیلین (کمپلکس ۲) و یا اکتیلین (کمپلکس ۳) باشد] در آزمایشگاه شیمی دانشگاه سیستان و بلوچستان سنتز شد و به منظور بررسی اثرات ضد سرطانی آن در مقایسه با داروی سیس پلاتین بر روی ردهی سلول سرطانی مری (KYSE-۳۰)، از روش‌های MTT [$5,2$ -diphenyltetrazolium bromide (۵،۲-Dimethylthiazol-۲-yl)]-۳- و ارزیابی کلونی استفاده شد و همچنین برای بررسی نوع مرگ سلولی (آپوپتوز یا نکروز) از رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج- اتیدیوم بروماید استفاده گردید.

یافته‌ها: IC₅₀ به دست آمده از تیمار سلول‌ها با کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ خیلی پایین‌تر از سیس پلاتین بود و همچنین رنگ‌آمیزی سلول‌ها با رنگ آکریدین اورنج- اتیدیوم بروماید نشان داد که این ۳ کمپلکس جدید، اثرات سایتوتوکسیک خود را از طریق القای آپوپتوز سلولی اعمال می‌کنند. مقایسه‌ی تعداد کلونی‌های شکل گرفته بعد از تیمار با غلظت‌های مختلف کمپلکس‌های پالادیوم، اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد نشان داد ($P < 0.001$).

نتیجه‌گیری: اثرات ضد سرطانی این ۳ کمپلکس بر روی ردهی سلولی KYSE-۳۰ بیشتر از داروی سیس پلاتین می‌باشد و حتی استفاده از غلظت‌های پایین کمپلکس‌های پالادیوم می‌تواند باعث کاهش تعداد کلونی و القای مرگ سلولی از نوع آپوپتوز شود که می‌توان از آن در صورت انجام تحقیقات تکمیلی بعدی، به عنوان داروی جایگزین در درمان سرطان مری استفاده کرد.

واژگان کلیدی: ردهی سلولی KYSE-۳۰، کمپلکس‌های جدید پالادیوم، کلونی، آپوپتوز، نکروز

ارجاع: نجف‌زاده نوروز، هادی‌زاده شهرام، مازنی محمد، امانی مجتبی، منصوری ترشیزی حسن. تأثیر ضد توموری کمپلکس‌های پالادیوم با مشتقات دی تیوکربوماتی بر روی ردهی سلولی سرطان مری (KYSE-۳۰). مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۴): ۱۱۴۱-۱۱۲۹

- ۱- استادیار، گروه علوم تشریحی و پاتولوژی، دانشکده پزشکی و پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
- ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی و پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
- ۳- دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی و پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
- ۴- دانشیار، گروه بیوفیزیک، دانشکده پزشکی و پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
- ۵- استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

Email: shahramhadizadeh@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: شهرام هادی‌زاده

مقدمه

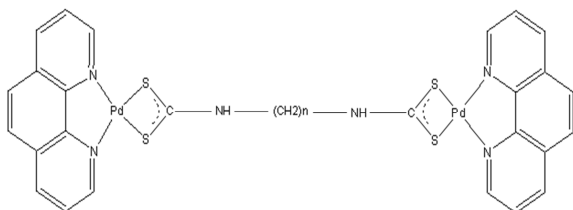
سرطان مری یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در دنیا می‌باشد. این سرطان هشتمین سرطان شایع و ششمین علت منجر به مرگ ناشی از سرطان در جهان است. سرطان مری به دو نوع اصلی آدنوکارسینومای مری و آدنوکارسینومای سلول‌های سنگفرشی مری تقسیم‌بندی می‌شود که کارسینومای سلول‌های سنگفرشی مری شایع‌ترین آن‌ها است (۱-۳). در بین سفید پوستان کشور آمریکا میزان بروز این سرطان در آقایان حدود ۳ برابر خانم‌ها می‌باشد (۴). استعمال دخانیات و مصرف الکل از عوامل اصلی در ابتلا به این سرطان می‌باشند (۵).

برای درمان بدخیمی‌ها می‌توان از روش‌های جراحی، پرتو درمانی، دارو درمانی و یا ترکیبی از این روش‌ها استفاده کرد. دارو درمانی در بیماران سرطانی شامل شیمی درمانی، بیوتراپی و استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال بر علیه برخی آنتی‌ژن‌های سلول بدخیم می‌باشد (۶). از جمله ترکیباتی که به عنوان دارو در شیمی درمانی علیه سلول‌های بدخیم مورد استفاده قرار می‌گیرد، کمپلکس‌های فلزات سنگین می‌باشند (۷-۹) در دهه‌ی ۱۹۶۰ با مطالعات گسترده‌ای که روی موش‌های آزمایشگاهی صورت گرفت، مشخص گردید که سیس پلاتین دارای خاصیت ضد سرطانی است و ایزومر ترانس آن فاقد این اثر و غیر فعال می‌باشد. به دنبال مطالعات و آزمایش‌های کلینیکی وسیع، سیس پلاتین به عنوان یک داروی ضد سرطان توسط اداره‌ی دارو و غذای آمریکا مورد قبول قرار گرفت. از سال ۱۹۹۹ میلادی یکی دیگر از آنالوگ‌های سیس پلاتین یعنی اگزالی پلاتین به همراه ۵- فلورو اوراسیل یا لکورین برای

درمان سرطان روده‌ی بزرگ در اتحادیه‌ی اروپا استفاده شد.

در حال حاضر نیز از سیس پلاتین به عنوان یک داروی ضد سرطان در درمان بدخیمی‌هایی همچون سرطان بیضه، تخمدان و تومورهای سر و گردن استفاده می‌گردد. در بین داروهای شیمی درمانی مشتق از پلاتینیوم و پالادیوم، بیشتر روی مکانیسم و عملکرد سیس پلاتین مطالعه شده است (۱۰-۱۲). اختلال در همانندسازی DNA، اثر عمده‌ای است که سیس پلاتین در سلول توموری ایجاد می‌کند و همین ایجاد اختلال در همانندسازی DNA است که سبب خاصیت ضد سرطانی سیس پلاتین شده است. توانایی سیس پلاتین در اتصال کووالانسی به DNA و توقف عمل DNA پلیمراز، باعث توقف چرخه‌ی سلولی و مرگ سلولی می‌شود (۱۳-۱۴). به علت وجود اثرات جانبی اکثر داروها و ترکیبات ضد سرطانی از جمله سیس پلاتین مانند آسیب‌های شنوایی، آسیب‌های کلیوی، آسیب‌های دستگاه گوارش و مغز استخوان، همواره تلاش‌های زیادی برای یافتن داروها و کمپلکس‌هایی با قدرت ضد سرطانی بالا و اثرات جانبی کمتر صورت گرفته است.

یکی از راه‌های کاهش اثرات جانبی ترکیبات حاوی فلزات سنگین، استفاده از کمپلکس‌های حاوی لیگاند سولفوردار مانند سیستئین، پنیسیل آمین، میتونین، تیوره، تیوسولفات و به خصوص لیگاند شلاته‌کننده‌ی دی‌اتیل دی‌تیو کاربامات می‌باشد که این لیگاندها باعث کاهش سمیت فلزات سنگین بر کلیه و دیگر بافت‌های بدن می‌شوند. رویکرد دیگر، استفاده از فلزاتی است که خاصیت سمی کمتری بر



شکل ۱. ساختار شیمیایی کمپلکس‌های جدید پالادیوم که n می‌تواند اعداد ۳ (کمپلکس ۱)، ۴ (کمپلکس ۲) و یا ۸ (کمپلکس ۳) باشد.

کمپلکس ۱: μ -۱،۳- پروپیلن بیس (دی‌تیو کربامات) بیس (۱،۱- فنانترولین پالادیوم (II)) نیترات
 کمپلکس ۲: μ -۴،۱- بوتیلن بیس (دی‌تیو کربامات) بیس (۱،۱- فنانترولین پالادیوم (II)) نیترات
 کمپلکس ۳: μ -۱،۸- اوکتیلن بیس (دی‌تیو کربامات) بیس (۱،۱- فنانترولین پالادیوم (II)) نیترات

گروه‌ها

در روش MTT (۳-(۵،۴-Dimethylthiazol-۲-yl) diphenyltetrazolium bromide -۵،۲-، گروه‌هایی که در ارزیابی کلونی و بررسی مرگ سلولی استفاده شد، به شرح زیر است:

الف) گروه شاهد که تحت تأثیر هیچ گونه دارویی قرار نگرفت.

ب) گروه مورد (Treatment) که در این گروه سلول‌ها تحت تأثیر غلظت‌های $0-64 \mu\text{g/ml}$ از کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ برای MTT و $0-8 \mu\text{g/ml}$ از کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ برای ارزیابی تعداد کلونی و ارزیابی نوع مرگ سلولی قرار گرفتند.

ج) گروه مقایسه که در این گروه داروی سیس‌پلاتین در شرایط به‌طور کامل یکسان، با کمپلکس‌های پالادیوم مورد مقایسه قرار گرفت.

کشت سلولی

رده‌ی سلولی KYSY-۳۰ از شرکت انستیتو پاستور ایران خریداری شد و در محیط RPMI-۱۶۴۰

روی بافت‌های سالم در مقایسه با فلز پلاتین داشته باشند. به همین علت، استفاده از دیگر فلزات گروه پلاتین نظیر پالادیوم، اسمیوم و ایریدیوم در تحقیقات مورد توجه قرار گرفت.

مزیت کمپلکس‌های جدید مورد استفاده در این مطالعه، وجود ریشه‌های دی‌تیو کربامات می‌باشد که بنا به گزارش‌ها، باعث کاهش اثرات جانبی فلزات سنگین می‌شود و همچنین فلز پالادیوم به کار رفته در این کمپلکس‌ها نیز دارای اثرات جانبی کمتری به نسبت فلز پلاتین می‌باشد. وجود ساختار ۱،۱- فنانترولین در ساختمان مولکولی این ۳ کمپلکس پالادیوم، باعث شده است پیوند این مولکول‌ها با DNA از نوع پیوند اینترکالیشن باشد. در پیوند اینترکالیشن یک قسمت مسطحی از مولکول بین بازهای موجود در DNA قرار می‌گیرد و در نتیجه، مانع از رونویسی و همانندسازی DNA می‌شود (۱۵، ۵). از این رو، با توجه به گزارش‌های قبلی مبنی بر حساسیت سرطان‌های دستگاه گوارش به شیمی‌درمانی و کمتر بودن اثرات جانبی کمپلکس‌های پالادیوم حاوی گروه‌های دی‌تیول بر روی سلول‌های کلیه، در این مطالعه برای اولین بار تأثیرات ضد سرطانی این کمپلکس‌ها را روی سلول‌های سرطان مری مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

داروها

کمپلکس‌های پالادیوم زیر در آزمایشگاه شیمی دانشگاه سیستان و بلوچستان مشابه پروتکل گزارش شده ساخته شد (۱۶). ساختار مولکولی این ۳ ترکیب در شکل ۱ نشان داده شده است.

(۱۶۴۰-Roswell Park Memorial Institute) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و محلول آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین / استرپتومایسین ۱ درصد کشت داده شد و سپس در انکوباتور، در دمای °C ۳۷ و CO₂ ۵ درصد نگهداری شد.

روش MTT

برای انجام MTT ابتدا سلول‌های رده‌ی سلولی KYSE-۳۰ توسط محلول حاوی تریپسین-EDTA (Ethylenediaminetetraacetic- Trypsin) از کف پلیت جدا و با PBS (Phosphate buffered saline) شستشو و در غلظت 1×10^4 سلول در $200 \mu\text{l}$ در داخل پلیت ۹۶ خانه‌ای کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند تا سلول‌ها به کف پلیت بچسبند. سپس محیط آسپیره گردید. ردیف اول پلیت ۹۶ خانه‌ای به عنوان بلانک، ردیف دوم به عنوان شاهد و ردیف‌های بعدی به ترتیب با غلظت‌های $0/5$ ، 1 ، 2 ، 4 ، 8 ، 16 ، 32 و 64 از کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ تیمار گردید.

در این مرحله، از محیط کشت بدون FBS (Fetal bovine serum) استفاده شد و دوباره پلیت‌ها به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه گردیدند. چهار ساعت قبل از اتمام زمان انکوبه، محیط کشت آسپیره شد و $180 \mu\text{l}$ محیط بدون FBS و $20 \mu\text{l}$ از رنگ MTT (5 mg/ml) به هر ول اضافه گردید و پلیت‌ها برای چهار ساعت دیگر انکوبه و بعد از آن محیط رویی آسپیره شد و $180 \mu\text{l}$ از محلول دی‌متیل سولفوکسید (DMSO یا Dimethyl sulfoxide) به هر ول اضافه و پلیت‌ها به مدت ۱۰ دقیقه Shake گردیدند و جذب در 570 nm توسط الیزا ریدر

اندازه‌گیری شد.

در نهایت، میزان بقای سلولی در پلیت ۹۶ خانه‌ای با استفاده از فرمول $100 \times$ (جذب نوری سلول‌های شاهد ÷ جذب نوری سلول‌های مورد) محاسبه و میزان IC₅₀ با برنامه‌ی Sigma plot نسخه‌ی ۱۲ محاسبه گردید (۲۰-۱۷).

روش ارزیابی تعداد کلونی

برای انجام کلونی کانت سلول‌های مربوط به رده‌ی سلولی KYSE-۳۰ را از ته پلیت توسط تریپسین-EDTA جمع‌آوری و سپس با FBS شستشو داده و در پلیت‌های شش‌خانه در غلظت ۵۰۰ سلول در هر ول به همراه ۲ cc محیط کشت RPMI-۱۶۴۰ حاوی ۱۰ درصد FBS کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور °C ۳۷ با رطوبت کافی و CO₂ ۵ درصد نگهداری گردید.

سپس سلول‌ها با غلظت‌های $8-0 \mu\text{g/ml}$ از کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ تیمار داده شدند و به مدت هفت روز دیگر انکوبه گردیدند. در طول این هفت روز، هر ۴۸ ساعت محیط‌های کشت آسپیره و دوباره با محیط کشت جدید حاوی دوز مشابه جایگزین می‌شدند. محیط کشت موجود در ول شاهد نیز در طول این هفت روز هر ۴۸ ساعت با محیط کشت جدید جایگزین گردید.

در پایان این هفت روز، محیط کشت آسپیره و سلول‌ها دو بار با محلول PBS شستشو داده شد و کلونی‌های ایجاد شده با متانول ۰/۵ درصد فیکس و با رنگ کریستال ویوله‌ی ۰/۵ درصد رنگ‌آمیزی شدند. سپس پلیت‌ها با آب مقطر شستشو و در دمای اتاق خشک گردیدند. در نهایت، از کلونی‌های ایجاد شده در پلیت‌ها، عکس تهیه گردید و توسط نرم‌افزار Image J

Honest significant difference نامیده می‌شود) استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها، سطح معنی‌دار آزمون‌ها $0/05 < <$ در نظر گرفته شد. کلونی‌ها با برنامه‌ی ImageJ شمارش شدند و برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزارهای Excel و Sigma Plot نسخه‌ی ۱۲ استفاده گردید.

یافته‌ها

میزان بقای سلولی و مقدار IC_{50}

اثر ۳ کمپلکس جدید ۱، ۲ و ۳ بر روی رده‌ی سلولی KYSE-۳۰ بررسی و میزان بقای سلولی از طریق MTT تعیین گردید. اساس MTT بر مبنای تبدیل نمک تترازولیوم محلول به فورمازان نامحلول توسط میتوکندری‌های سلول‌های زنده می‌باشد. رسوب حاصل ارغوانی رنگ است. شدت رنگ ایجاد شده توسط دستگاه الیزا در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد سلول‌های زنده در هر چاهک با میزان جذب نوری (OD یا Optical density) خوانده شده توسط دستگاه الیزا ریدر متناسب می‌باشد.

درصد سلول‌های زنده پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه با استفاده از فرمول $100 \times$ (جذب نوری سلول‌های شاهد ÷ جذب نوری سلول‌های مورد) محاسبه گردید. نتایج نشان داد که میزان حیات سلول‌های ۳ رده‌ی سلولی در محدوده‌ی غلظت‌های $0/125-64 \mu\text{g/ml}$ کمپلکس‌های جدید پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون، روند کاهشی از خود نشان می‌دهند که این روند کاهشی، متناسب با دوز کمپلکس‌ها می‌باشد؛ به طوری که در دوزهای بالا، میزان حیات سلولی، کاهش زیادی را در مقایسه با

کلونی‌ها شمارش شدند و IC_{50} محاسبه گردید (۲۱).

رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج - اتیدیوم بروماید

رده‌ی سلولی سرطان مری (KYSE-۳۰)، در پلیت فلاسک T۲۵ کشت داده شدند. بعد از گذشت یک هفته، با تریپسین جدا و پس از سانتریفوژ، تعداد ۱۲۰۰۰ سلول در هر پلیت شش خانه به مدت هفت روز کشت داده شدند. روز اول محیط کشت سلول‌ها با دوزهای مختلف از ۳ نوع کمپلکس پالادیومی تعویض شد. بعد از هفت روز، سلول‌ها با مخلوط رنگ آکریدین اورنج ($100 \mu\text{g/ml}$) و اتیدیوم بروماید ($100 \mu\text{g/ml}$) رنگ‌آمیزی شدند و بعد از ۵ دقیقه با میکروسکوپ فلورسنت مدل المپیوس، تصاویری تهیه گردید.

هسته‌ی سلول‌های آپوتوتیک متراکم و قطعه قطعه شده و به راحتی از سلول‌های طبیعی قابل تمایز بودند، علاوه بر آن در این روش، سلول‌های آپوتوتیک اولیه با هسته‌ی متراکم سبز کم‌رنگ و غشای سیتوپلاسمی سالم، از سلول‌های آپوتوتیک تأخیری با هسته‌ی متراکم قرمز و قطعه قطعه قابل تفکیک بودند. سلول‌های نکروتیک نیز به رنگ زرد متمایل به قرمز و یک دست و بدون قطعه قطعه شدن هسته مشخص بودند و سلول‌های سالم نیز به رنگ سبز پررنگ دیده می‌شدند (۱۷-۱۸).

آنالیز آماری

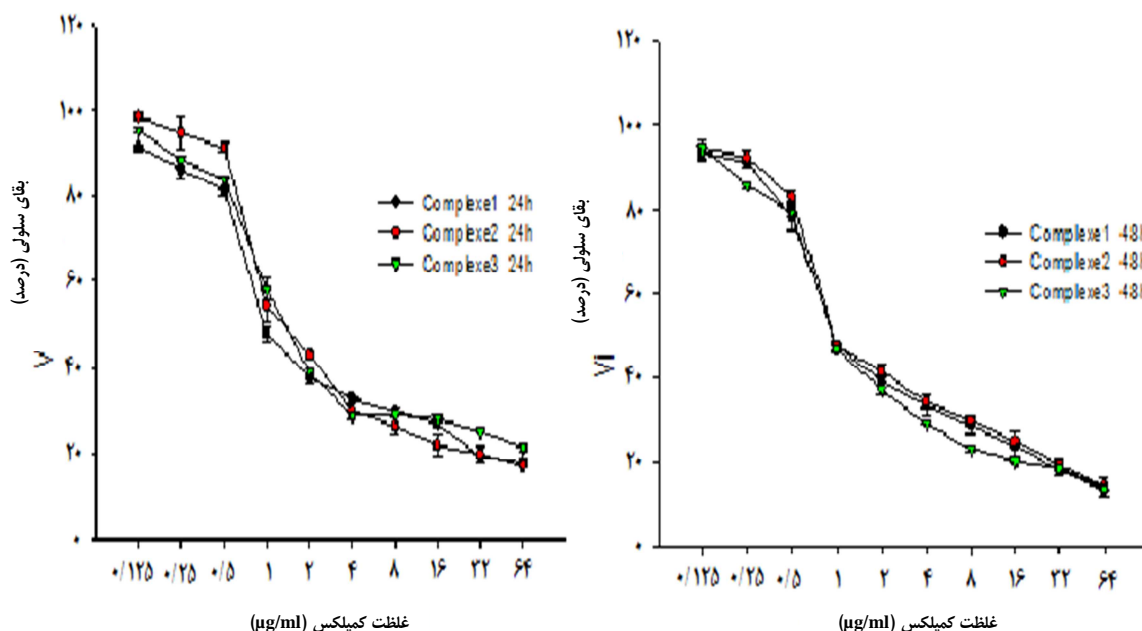
در تمامی مراحل، هر آزمون ۳ بار تکرار شد و داده‌های به دست آمده به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شدند. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها، از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) یا (One-way analysis of variance) و آزمون Tukey (آزمون اختلاف حقیقی که به طور مخفف HSD یا

ارزیابی تعداد کلونی‌ها

شمارش تعداد کلونی‌های رده‌ی سلولی KYSE-30 که با دوزهای مختلف کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ به مدت ۷ روز تیمار شده بود، نشان داد که با افزایش غلظت این کمپلکس‌ها، تعداد کلونی‌هایی با بیش از ۵۰ سلول کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های مورد در مقایسه با گروه شاهد که هیچ گونه تیماری دریافت نکرده بود، در هر ۳ کمپلکس ۱، ۲ و ۳ مشاهده گردید؛ به طوری که در سلول‌های تیمار شده با هر ۳ کمپلکس، تعداد کلونی‌ها در غلظت $0.5 \mu\text{g/ml}$ و بالاتر از آن کاهش یافت و در غلظت $8 \mu\text{g/ml}$ هیچ کلونی مشاهده نشد (شکل ۳). مقدار IC_{50} برای کمپلکس‌های ۱، ۲، ۳ و سیس پلاتین از طریق روش کلونی کانت محاسبه و نتایج در جدول ۱ آمده است.

دوزهای کمتر از خود نشان می‌دهند (شکل ۲) ($P < 0.05$).

همچنین میزان IC_{50} از طریق روش‌های MTT (۲۴ و ۴۸ ساعته) و کلونی کانت مشخص و با سیس پلاتین مورد مقایسه قرار گرفت. مقدار IC_{50} کل برای کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ و سیس پلاتین به ترتیب برابر 0.20 ± 0.086 ، 0.24 ± 0.094 ، $1/17 \pm 1/07$ و $2/26 \pm 0/41$ بود. داده‌های به دست آمده از میزان IC_{50} این کمپلکس‌ها، نشان دهنده‌ی این نکته است که میزان IC_{50} به دست آمده از ۳ کمپلکس جدید از میزان IC_{50} به دست آمده از اثر سیس پلاتین بر روی رده‌ی سلولی مورد نظر، پایین‌تر بود. همچنین رده‌ی سلولی KYSE-30 در بین ۳ کمپلکس جدید بیشتر به کمپلکس ۱ حساس‌تر می‌باشد (جدول ۱).



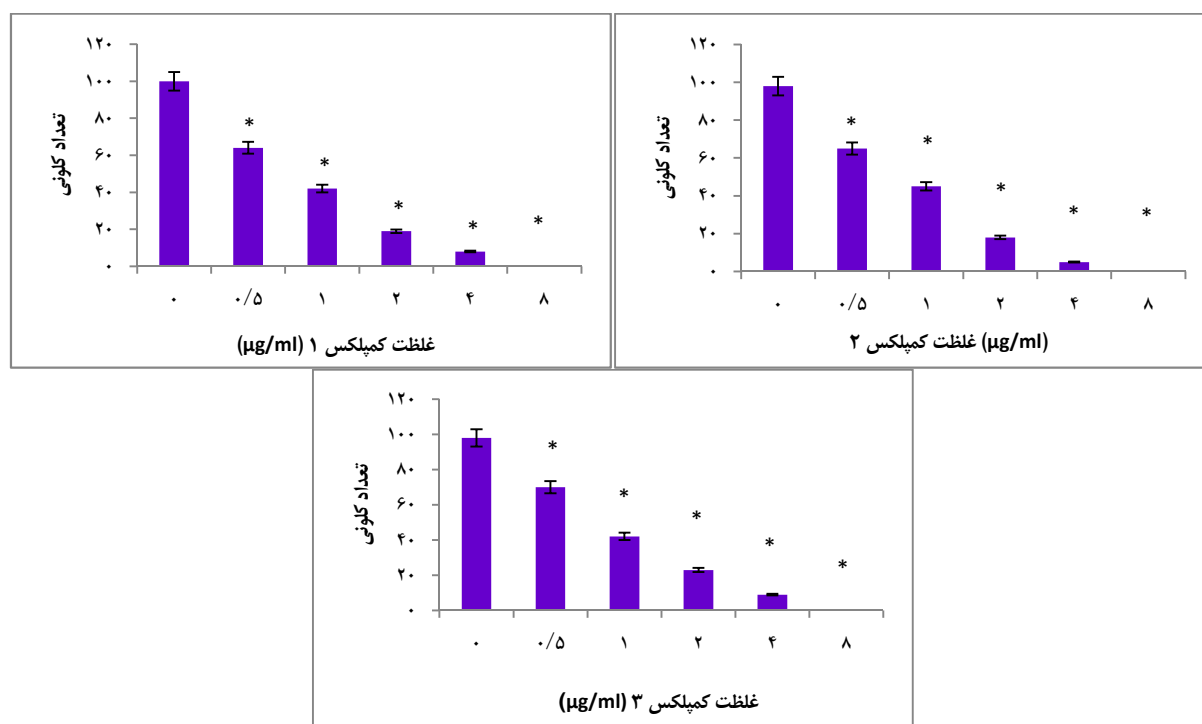
شکل ۲. میزان بقای سلولی به دست آمده از اثر کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ بر روی رده‌ی سلولی KYSE-30 توسط MTT

5,2-diphenyltetrazolium bromide-(*Dimethylthiazol-2-yl*)-(۵,۴-۳) (۲۴ و ۴۸ ساعته).

مقادیر بر حسب $\mu\text{g/ml}$ می‌باشد.

جدول ۱. مقدار IC_{50} به دست آمده از اثر کمپلکس‌های ۱، ۲، ۳ و داروی سیس پلاتین بر روی رده‌ی سلولی KYSE-30 با روش MTT ($2,5\text{-diphenyltetrazolium bromide}$ - 2-yl - $4,5\text{-Dimethylthiazol}$) (۳- (۲۴ و ۴۸ ساعته) و کلونی کانت. مقادیر بر حسب $\mu\text{g/ml}$ می‌باشند

کلونی کانت	MTT (۴۸ ساعت)	MTT (۲۴ ساعت)	کل IC_{50}
کمپلکس ۱	0.89 ± 0.25	0.87 ± 0.11	0.86 ± 0.20
کمپلکس ۲	0.95 ± 0.31	1.02 ± 0.20	0.94 ± 0.24
کمپلکس ۳	1.06 ± 0.22	1.05 ± 0.23	1.07 ± 0.17
سیس پلاتین	2.00 ± 0.46	1.79 ± 0.30	2.26 ± 0.41

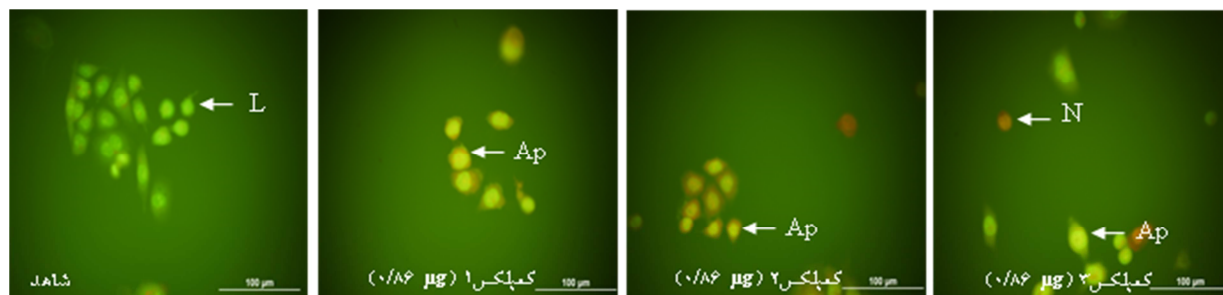


شکل ۳. این نمودار تأثیر رقت‌های مختلف کمپلکس‌های ۱، ۲، ۳ بر روی تعداد کلونی‌های رده‌ی سلولی KYSE-30 را نشان می‌دهد ($P < 0.001$)

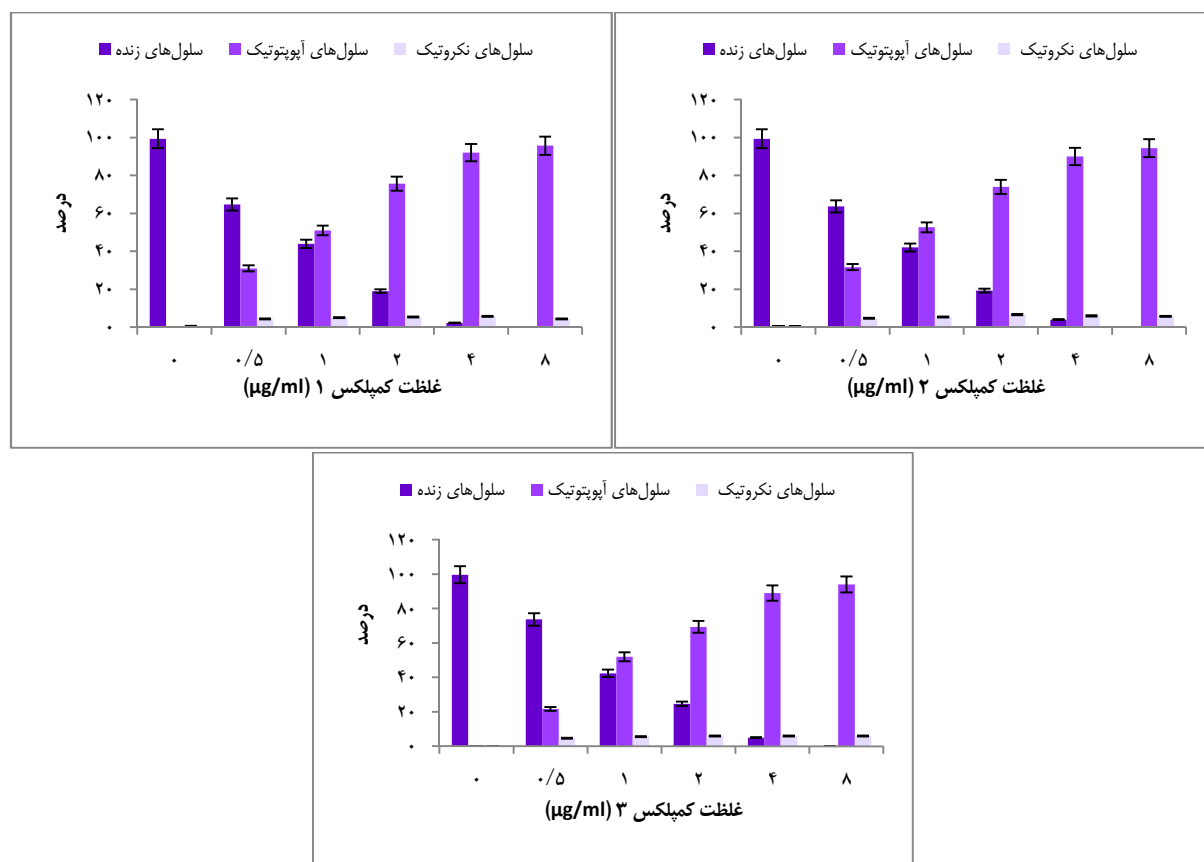
بررسی مرگ سلولی

برای بررسی نوع مرگ سلولی ناشی از اثر کمپلکس‌های ۱، ۲، ۳ از روش رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج- اتیدیوم برمایند استفاده گردید. بعد از رنگ‌آمیزی سلول‌های تیمار شده با کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳، سلول‌هایی با هسته‌ای زرد رنگ و دارای تغییرات مورفولوژیک از جمله تراکم و قطعه قطعه شدن هسته که دارای اجسام آپوپتوتیک بودند،

مشاهده گردید. هسته‌ی سلول‌های نکروتیک نیز با رنگ قرمز از دیگر سلول‌ها قابل تفکیک بود (شکل ۴). بعد از این رنگ‌آمیزی، تعداد سلول‌های زنده و آپوپتوتیک و نکروتیک مورد شمارش قرار گرفت. نتایج، گویای افزایش معنی‌دار در درصد سلول‌های آپوپتوتیک بود؛ به طوری که با افزایش غلظت این کمپلکس‌ها بر تعداد سلول‌های آپوپتوتیک افزوده و از تعداد سلول‌های زنده کاسته شد (شکل ۵).



شکل ۴. رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج- اتیدیوم بروماید رده‌ی سلولی KYSE-۳۰ تیمار شده با دوز IC₅₀ کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳: سلول‌های زنده، Ap: سلول‌های آپپتوتیک، N: سلول‌های نکروتیک. مقادیر بر حسب $\mu\text{g/ml}$ می‌باشد



شکل ۵. مقایسه‌ی درصد سلول‌های زنده، آپپتوتیک و نکروتیک در رده‌ی سلولی KYSE-۳۰ تیمار شده با غلظت‌های مختلف کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳

کرد (۲-۴). مطالعات دکتر ترشیزی و همکاران نشان داد که کمپلکس‌های ۲ و ۲'-بای پیریدین بوتیل دی تیو کربامات پلاتینیوم (II) و پالادیوم (II) با DNA واکنش می‌دهند و در غلظت پایین ($100 \mu\text{mol}$) باعث دناتوره شدن DNA سلول‌های رده‌ی سلولی

بحث

از جمله ترکیباتی که به عنوان دارو در شیمی درمانی علیه سلول‌های بدخیم مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌توان به کمپلکس‌های حاوی فلزات سنگین نظیر پلاتین، پالادیوم، اسمیوم و ایریدیوم (Iridium) اشاره

کمپلکس دیگر و مقدار IC_{50} برای کمپلکس ۱ برابر $0.20 \pm 0.86 \mu\text{g/ml}$ می‌باشد. با توجه به این که این کمپلکس در اندازه‌ی مولکولی با هم اختلاف دارند و کمپلکس ۱ کشیدگی مولکولی کمتری در مقایسه با ۳ کمپلکس دیگر دارد؛ این احتمال وجود دارد که اندازه‌ی مولکول نیز در اتصال کارآمد به DNA و سایتو توکسیسیته نقش داشته باشد.

در مطالعه‌ی مشابهی، منصوری ترشیزی و همکاران تأثیر دو کمپلکس جدید پلاتینیوم و پالادیوم را روی رده‌ی سلولی K562 بررسی و آن را با سیس پلاتین مقایسه کردند و به این نتیجه رسیدند که این دو ترکیب، اثرات ضد سرطانی بیشتری نسبت به سیس پلاتین دارند. سلول‌های این رده، حساسیت متفاوتی را در مقابل این دو کمپلکس ستنز شده نشان دادند (۲۲).

در مطالعه‌ای که توسط آریان‌پور و همکاران انجام شد، ۳ کمپلکس پالادیوم جدید روی ۳ لاین سلولی کبد، ریه و تخمدان مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه با سیس پلاتین مقایسه گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که رده‌ی سلولی A549 بیشترین حساسیت را در مقابل کمپلکس $[Pd(bpy)(Bu-dtc)]Cl$ و رده‌ی سلولی سرطان کبد (HepG2) بیشترین حساسیت را در مقابل کمپلکس $[Pd(bpy)(hex-dtc)]Cl$ از خود نشان داد. همچنین رده‌ی سلولی سرطان تخمدان (OV2008) بیشترین حساسیت را در مقابل کمپلکس $[Pd(bpy)(Bu-dtc)]$ از خود نشان داد (۷).

همچنین مطالعه‌ی دیوسالار و همکاران، نشان داد که مقدار IC_{50} به دست آمده از اثر کمپلکس $2,2'$ -bipyridin ButylglycinatoPt (II) nitrate بر روی لاین سلولی K562 بعد از ۴۸، ۲۴ و ۷۲ ساعت انکوبه بیشتر از $100 \mu\text{mol}$ می‌باشد (۲۳).

K562 می‌شود (۲۲). با این حال، استفاده از این داروها، محدودیت‌های قابل توجهی دارد؛ به لحاظ این که به بسیاری از بافت‌های سالم بدن آسیب می‌زند. این محدودیت‌ها باعث شده است تلاش‌هایی جهت ساخت داروهایی بر پایه‌ی پلاتین یا پالادیوم انجام شود که نسبت به سلول‌های طبیعی، دارای سمیت کم و نسبت به سلول‌های سرطانی، قدرت تخریبی بالا داشته باشند.

یکی از استراتژی‌های کاهش اثرات جانبی ترکیبات حاوی فلزات سنگین، استفاده از کمپلکس‌های حاوی لیگاند شلاته کننده‌ی دی‌اتیل دی‌تیو کربامات می‌باشد که این لیگاندها باعث کاهش اثرات سمی فلزات سنگین بر سلول‌های کلیه و دیگر بافت‌های بدن می‌شوند (۷). مزیت کمپلکس‌های جدید مورد استفاده در این مطالعه، وجود ریشه‌های دی‌تیو کربامات است که بنا به گزارش‌ها، باعث کاهش اثرات جانبی فلزات سنگین می‌شود و همچنین فلز پالادیوم به کار رفته در این کمپلکس‌ها نیز دارای اثرات جانبی کمتری به نسبت فلز پلاتین می‌باشد. در این مطالعه، کمپلکس‌های پالادیوم طبق روش مشابهی که رفرنس داده شده است، در آزمایشگاه ساخته شد (۱۶).

داده‌های به دست آمده از میزان IC_{50} این کمپلکس‌ها نشان داد که کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ دارای اثرات بالقوه سمی بر روی رده‌ی سلولی KYSE-30 هستند و میزان IC_{50} به دست آمده از اثر این ۳ کمپلکس جدید بر روی رده‌ی سلولی، از میزان IC_{50} به دست آمده از اثر سیس پلاتین بر روی این رده‌ی سلولی پایین‌تر می‌باشد. همچنین اثر کمپلکس ۱ بر روی این رده‌ی سلولی، بهتر از دو

آپوپتوتیک افزوده و از تعداد سلول‌های زنده کاسته شد. نکروز و آپوپتوز دو روش مجزای مرگ سلولی می‌باشند. آپوپتوز همانند تمایز و تکثیر سلولی یکی از روش‌های مهم کنترل سلولی محسوب می‌گردد و هر گونه اختلال در آن، منجر به رشد غیر طبیعی سلول‌ها می‌شود (۲۶).

آپوپتوز به عنوان مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول نیز خوانده می‌شود (۲۶-۲۷). بر خلاف آپوپتوز، نکروز مرگ پاتولوژیک سلول است که در طی آسیب‌های شدید به سلول رخ می‌دهد (۲۸-۲۹). در این مطالعه، کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ توانایی بالایی در توقف چرخه‌ی سلولی و القای آپوپتوز از خود نشان دادند. از آن جا که آپوپتوز یک مکانیسم دفاعی سلول در برابر سرطانی شدن است و با توجه به این که اختلال در این فرایند به عنوان یک عامل مهم در ایجاد و گسترش سرطان به شمار می‌آید، اثر کمپلکس‌های جدید پالادیوم در القای آپوپتوز می‌تواند حایز اهمیت باشد.

در مطالعه‌ای که توسط Kontek و همکاران انجام شد، آن‌ها نشان دادند که کمپلکس جدید سنتز شده‌ی پالادیوم با فرمول عمومی $[PdCl_2(2-pmOpe)_2]$ trans دارای phosphates $diethyl(pyridine-2-ylmethyl)$ در ساختمان خود می‌باشد اثرات سایتوتوکسیک بالایی در برابر رده‌های سلولی سرطانی $(IC_{50} = 103/8 \mu M)$ و $A549 (IC_{50} = 150 \mu M)$ در مقایسه با لئوسیت‌های طبیعی خون انسان $(IC_{50} = 242/5 \mu M)$ از خود نشان می‌دهند. در تمام رده‌های سلولی این کمپلکس قادر به القای آپوپتوز و نکروز در سلول‌ها می‌باشد (۳۰).

در مطالعه‌ی Tayyem و همکاران اثر ضد سرطانی چهار کمپلکس جدید فلزی متشکل از پلاتین و پالادیوم با فرمول عمومی trans- $PtCl(NH_3)_2\}2\mu\{-trans-Pd(NH_3)_2-(H_2N(CH_2)[nNH_2]_2)\}Cl_4$ (که در آن $n = 4-7$ می‌باشد) را بر روی سرطان‌های تخمدان (A_{2780} , $cisR$, A_{2780} و $ZD0473$ ، A_{2780})، ملانوما ($Me-10538$) و ریه ($NCIH460$) بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که این ۴ کمپلکس جدید، بیشترین اثر را در مقابل سرطان تخمدان دارند و در بین این ۴ کمپلکس، اثر کمپلکس $trans-PtCl(NH_3)_2\}2\mu\{-trans-Pd(NH_3)_2-(H_2N(CH_2)_6NH_2)_2\}Cl_4$ از بقیه بهتر می‌باشد. مقدار IC_{50} برای این کمپلکس در رده‌های سلولی A_{2780} , $cisR$, A_{2780} و $ZD0473$ به ترتیب برابر $0/48 \mu mol$ ، $0/250$ و $0/230$ می‌باشد (۲۴).

در مطالعه‌ی Gao و همکاران مشاهده شد که کمپلکس فلزی سنتز شده با فرمول H_2O $[Pd(bpy)(bmal)]$ که در آن bpy -bipyridyl $= 2,2'$ و $bmal = benzylmalonate$ می‌باشد، اثرات سایتوتوکسیک در برابر رده‌ی سلولی سرطان ریه ($AGZY-83$) از خود نشان می‌دهد ($IC_{50} = 55/4 \mu g/ml$) (۲۵).

برای بررسی نوع مرگ سلولی ناشی از اثر کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ بر روی این ۳ رده‌ی سلولی، از رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج- اتیدیوم برماید استفاده گردید که نتایج نشان دهنده‌ی افزایش معنی‌دار در درصد سلول‌های آپوپتوتیک می‌باشد؛ به طوری که با افزایش غلظت این کمپلکس‌ها، بر تعداد سلول‌های

سرطانی مری در شرایط *In vitro* از خود نشان می‌دهند و این کمپلکس‌ها می‌توانند بعد از مطالعات *In vivo* و همچنین انجام تحقیقات تکمیلی، به عنوان جایگزین مناسبی برای درمان سرطان معده، کبد و مری محسوب شوند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی و مدیریت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل و مدیریت محترم گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی به خاطر مساعدت و همکاری در این مطالعه قدردانی نمایند. مقاله‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی ثبت شده در شورای پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی اردبیل می‌باشد.

غلظت بالای یون کلرید در دستگاه گوارش، موجب غیر فعال شدن سیس پلاتین و کاهش اثرات ضد سرطانی آن می‌شود، اما به خاطر این که این ۳ کمپلکس جدید با یون کلرید موجود در دستگاه گوارش واکنش نمی‌دهند و غیر فعال نمی‌شوند، می‌توانند کاندیدای بهتری برای درمان تومورهای موجود در این نواحی باشند. همچنین انتظار می‌رود این کمپلکس‌های جدید در مقایسه با سیس پلاتین، اثرات سمی کمی بر روی سلول‌های کلیه داشته باشند؛ چرا که آن‌ها با گروه‌های سولفیدریل سلول‌های توبول‌های کلیه واکنش نشان نمی‌دهند (۳۱).

در پایان می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که کمپلکس‌های جدید پالادیوم، تأثیرات بیشتری در مقایسه با سیس پلاتین روی مرگ سلولی سلول‌های

References

1. Kelsen DP, Daly JM, Kern SE, Levin B, Tepper JE, van Cutsem E. Principles and practice of gastrointestinal oncology. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2007.
2. Enzinger PC, Mayer RJ. Esophageal cancer. *N Engl J Med* 2003; 349(23): 2241-52.
3. Zhao JS, Li WJ, Ge D, Zhang PJ, Li JJ, Lu CL, et al. Tumor initiating cells in esophageal squamous cell carcinomas express high levels of CD44. *PLoS One* 2011; 6(6): e21419.
4. Yang PC, Davis S. Incidence of cancer of the esophagus in the US by histologic type. *Cancer* 1988; 61(3): 612-7.
5. Hong Y, Miao X, Zhang X, Ding F, Luo A, Guo Y, et al. The role of P53 and MDM2 polymorphisms in the risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2005; 65(20): 9582-7.
6. Foltinova V, Svihalkova Sindlerova L, Horvath V, Sova P, Hofmanova J, Janisch R, et al. Mechanisms of effects of platinum (II) and (IV) complexes. Comparison of cisplatin and oxaliplatin with satraplatin and LA-12, new Pt (IV)-based drugs. A minireview. *Scripta Medica (BRNO)* 2008; 81(2): 105-16.
7. Aryanpour N, Mansouri-Torshizi H, Nakhjavan M, Shirazi H. Cytotoxicity of Diimine Palladium (II) Complexes of Alkyldithiocarbamate Derivatives on Human Lung, Ovary and Liver Cells. *Iran J Pharm Res* 2012; 11(2): 689-95.
8. Balcerzak M. Sample digestion methods for the determination of traces of precious metals by spectrometric techniques. *Anal Sci* 2002; 18(7): 737-50.
9. Tusek-Bozic L, Juribasic M, Traldi P, Scarcia V, Furlani A. Synthesis, characterization and antitumor activity of palladium(II) complexes of monoethyl 8-quinolylmethylphosphonate. *Polyhedron* 2008; 27(4): 1317-28.
10. Barnes KR, Kutikov A, Lippard SJ. Synthesis, characterization, and cytotoxicity of a series of estrogen-tethered platinum(IV) complexes. *Chem Biol* 2004; 11(4): 557-64.
11. Katano K, Kondo A, Safaei R, Holzer A, Samimi G, Mishima M, et al. Acquisition of resistance to cisplatin is accompanied by changes in the cellular pharmacology of copper. *Cancer Res* 2002; 62(22): 6559-65.
12. Rajabi N, Nematbakhsh M, Pezeshki Z, Talebi A, Ashrafi F. N-Acetylcysteine and Cisplatin-Induced Nephrotoxicity: Is It a Suitable Antioxidant Supplementation to Prevent

- Nephrotoxicity in Male or Female Rats? *J Isfahan Med Sch* 2013; 31(229): 294-304. [In Persian].
13. Zamble DB, Lippard SJ. Cisplatin and DNA repair in cancer chemotherapy. *Trends Biochem Sci* 1995; 20(10): 435-9.
 14. Sullivan EJ, Kurtoglu M, Brennen R, Liu H, Lampidis TJ. Targeting cisplatin-resistant human tumor cells with metabolic inhibitors. *Cancer Chemother Pharmacol* 2014; 73(2): 417-27.
 15. Cepeda V, Fuertes MA, Castilla J, Alonso C, Quevedo C, Perez JM. Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity. *Anticancer Agents Med Chem* 2007; 7(1): 3-18.
 16. Mansouri-Torshizi H, Saeidifar M, Divsalar A, Saboury AA. Interaction studies between a 1,10-phenanthroline adduct of palladium(II) dithiocarbamate anti-tumor complex and calf thymus DNA. A synthesis spectral and in-vitro study. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2010; 77(1): 312-8.
 17. Jafari N, Bohlooli S, Mohammadi S, Mazani M. Cytotoxicity of methylsulfonylmethane on gastrointestinal (AGS, HepG2, and KEYSE-30) cancer cell lines. *J Gastrointest Cancer* 2012; 43(3): 420-5.
 18. Bohlooli S, Jafari N, Jahed S. Cytotoxic effect of freeze-dried extract of Ecballium elaterium fruit on gastric adenocarcinoma (AGS) and esophageal squamous cell carcinoma (KYSE30) cell lines. *J Gastrointest Cancer* 2012; 43(4): 579-83.
 19. Mansouri-Torshizi H, Saeidifar M, Khosravi F, Divsalar A, Saboury AA, Hassani F. DNA Binding and Antitumor Activity of alpha-Diimineplatinum(II) and Palladium(II) Dithiocarbamate Complexes. *Bioinorg Chem Appl* 2011; 2011: 394506.
 20. Sharma C, Vas AJ, Goala P, Gheewala TM, Rizvi TA, Hussain A. Ethanolic Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Extract Prevents Growth of MCF-7 and HeLa Cells and Potentiates the Therapeutic Index of Cisplatin. *J Oncol* 2014; 2014: 321754.
 21. Jha HC, Lu J, Saha A, Cai Q, Banerjee S, Prasad MA, et al. EBNA3C-mediated regulation of aurora kinase B contributes to Epstein-Barr virus-induced B-cell proliferation through modulation of the activities of the retinoblastoma protein and apoptotic caspases. *J Virol* 2013; 87(22): 12121-38.
 22. Mansouri-Torshizi H, Moghaddam M, Divsalar A, Saboury AA. 2,2'-Bipyridinebutyldithiocarbamatoplatinum(II) and palladium(II) complexes: synthesis, characterization, cytotoxicity, and rich DNA-binding studies. *Bioorg Med Chem* 2008; 16(21): 9616-25.
 23. Divsalar A, Saboury AA, Ahadi L, Zemanatiyar E, Mansouri-Torshizi H. Investigation of effects of newly synthesized Pt(II) complex against human serum albumin and leukemia cell line of K562. *BMB Rep* 2010; 43(11): 766-71.
 24. Tayyem H, Huq F, Yu JQ, Beale P, Fisher K. Synthesis and activity of a trinuclear platinum complex: $[\{trans-PtCl(NH_3)_2\}2\mu-\{trans-Pt(3-hydroxypyridine)_2(H_2N(CH_2)_6NH_2)_2\}]Cl_4$ in ovarian cancer cell lines. *ChemMedChem* 2008; 3(1): 145-51.
 25. Gao EJ, Wang KH, Gu XF, Yu Y, Sun YG, Zhang WZ, et al. A novel binuclear palladium complex with benzothiazole-2-thiolate: synthesis, crystal structure and interaction with DNA. *J Inorg Biochem* 2007; 101(10): 1404-9.
 26. Macdonald F, Ford C, Casson A. *Molecular biology of cancer* Florence, Kentucky: Taylor and Francis; 2004.
 27. Neves I, Jr., Bertho AL, Veloso VG, Nascimento DV, Campos-Mello DL, Morgado MG. Improvement of the lymphoproliferative immune response and apoptosis inhibition upon in vitro treatment with zinc of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from HIV+ individuals. *Clin Exp Immunol* 1998; 111(2): 264-8.
 28. Armitage D, Wilkinson G, Stone F, Abel E. *Comprehensive organometallic chemistry*. New York, NY: Pergamon Press; 1982. vol 2. p.99.
 29. Gordon JA. Use of vanadate as protein-phosphotyrosine phosphatase inhibitor. *Methods Enzymol* 1991; 201: 477-82.
 30. Kontek R, Matlawska-Wasowska K, Kalinowska-Lis U, Kontek B, Ochocki J. Evaluation of cytotoxicity of new trans-palladium(II) complex in human cells in vitro. *Acta Pol Pharm* 2011; 68(1): 127-36.
 31. Zhao G, Sun H, Lin H, Zhu S, Su X, Chen Y. Palladium(II) complexes with N,N'-dialkyl-1,10-phenanthroline-2,9-dimethanamine: synthesis, characterization and cytotoxic activity. *J Inorg Biochem* 1998; 72(3-4): 173-7.

Anticancer Effects of Palladium Complexes of Dithiocarbamate Derivatives on Esophageal Cancer Cell Line (KEYSE-30)

Nowruz Najafzadeh PhD¹, Sharam Hadizadeh PhD², Mohammad Mazani PhD³,
Mojtaba Amani PhD⁴, Hassan Mansouri-Torshizi PhD⁵

Original Article

Abstract

Background: Surgery, radiation therapy, drug therapy or a combination of these methods can be used for the treatment of malignancies. Drug therapy in cancer includes chemotherapy, biotherapy and use of monoclonal antibodies against antigens of malignant cells. Heavy metal complexes are of the compounds used as drugs in chemotherapy against malignant cells. The present study aimed to assess the effects of new anticancer palladium complexes on esophageal cancer cells.

Methods: New palladium complexes, namely [(phen) Pd (μ -al-bis-dtc) Pd (phen)] (NO₃)₂ (where alkylenebisdithiocarbamate, al-bis-dtc = propylenebisdithiocarbamate (pn-bis-dtc, 1); butylenebisdithiocarbamate (bu-bis-dtc, 2); octylenebis- dithiocarbamate (oc-bis-dtc, 3) and phen=1,10-phenanthroline) was synthesized in the laboratory of Chemistry, University of Sistan and Baluchestan, Iran. To investigate the anticancer effects of three new complexes compared to cisplatin on esophageal cancer cell line (KYSE-30), cytotoxicity was examined through MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] and clonogenic assays. Ethidium bromide/acridine orange (EB/AO) staining was used for apoptotic and necrotic cells detection.

Findings: The results of MTT and clonogenic assays showed that the IC₅₀ value obtained from cells treated with complexes 1, 2 and 3 were much lower than cisplatin and also ethidium bromide/acridine orange staining demonstrated that three new complexes applied its cytotoxic effect via apoptotic pathway. Comparing the number of colonies formed after treatment with various concentrations of palladium complexes showed significant differences compared with control (P < 0.001).

Conclusion: Findings of this study showed that anti-tumor effect of three new complexes on KYSE-30 cell line were higher than that of cisplatin. And, even the use of low concentrations of palladium complexes can reduce the number of colonies and induce cell death by apoptosis. With further researches later, it can be used as an alternative drug in the treatment of esophageal cancer.

Keywords: KEYSE-30, New palladium complexes, Colony assay, Apoptosis, Necrosis

Citation: Najafzadeh N, Hadizadeh Sh, Mohammad Mazani M, Amani M, Mansouri-Torshizi H. Anticancer Effects of Palladium Complexes of Dithiocarbamate Derivatives on Esophageal Cancer Cell Line (KEYSE-30). J Isfahan Med Sch 2014; 32(294): 1129-41

1- Assistant Professor, Department of Anatomy and Pathology, School of Medicine and Allied Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

2- MSc Student, Department of Biochemistry, School of Medicine and Allied Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

3- Associate Professor, Department of Biochemistry, School of Medicine and Allied Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

4- Associate Professor, Department of Biophysics, School of Medicine and Allied Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

5- Assistant Professor, Department of Chemistry, School of Basic Sciences, University of Sistan and Balochestan, Zahedan, Iran

Corresponding Author: Sharam Hadizadeh PhD Email: shahramhadizadeh@yahoo.com

آیا برنامه‌های باز توانی در زنان چاق مبتلا به بیماری قلبی مؤثرتر از گروه غیر چاق می‌باشد؟

دکتر جعفر گلشاهی^۱، دکتر معصومه صادقی^۱، فاطمه استکی قشقایی^۲، دکتر حمیدرضا روح‌افزا^۳،
دکتر علی پورمقدس^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: چاقی و سبک زندگی بدون فعالیت، عوامل خطر مهم بیماری قلبی-عروقی می‌باشند. شیوع چاقی در زنان و مردان در جهان افزایش یافته است. در این مطالعه، اثربخشی برنامه‌ی باز توانی قلبی در ظرفیت عملکردی و شاخص توده‌ی بدنی (Body mass index یا BMI) زنان چاق و غیر چاق با بیماری عروق قلبی بررسی شد.

روش‌ها: این مطالعه‌ی مشاهده‌ای طی سال‌های ۹۲-۱۳۸۶، بر روی ۲۰۵ زن مبتلا به بیماری قلبی-عروقی که به مرکز باز توانی قلبی پژوهشکده‌ی قلب و عروق اصفهان مراجعه کرده بودند، انجام شد. برای هر نفر، شاخص توده‌ی بدنی و ظرفیت عملکردی قبل و بعد از مطالعه بررسی شد. بیماران بر اساس شاخص توده‌ی بدنی به دو دسته‌ی چاق و غیر چاق تقسیم شدند. داده‌ها در نرم‌افزار SPSS با آزمون‌های Paired t و Independent t واکاوی شدند.

یافته‌ها: مطالعات نشان داد که برنامه‌ی باز توانی قلبی در هر دو گروه چاق و غیر چاق، تأثیر واضحی بر روی ظرفیت عملکردی داشت ($P < 0/010$) و همچنین بهبودی BMI نیز در هر دو گروه مشاهده شد ($P < 0/010$). تغییر ظرفیت عملکردی در دو گروه تفاوت واضحی نداشت؛ اما تغییر BMI در دو گروه، تفاوت معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: باز توانی قلبی روشی مهم و مؤثر در وضعیت ظرفیت عملکردی و بهبودی شاخص توده‌ی بدنی در زنان چاق با بیماری عروق قلبی می‌باشد.

واژگان کلیدی: باز توانی قلبی، بیماری قلبی-عروقی، چاقی، ظرفیت عملکردی، نمایه‌ی توده‌ی بدنی

ارجاع: گلشاهی جعفر، صادقی معصومه، استکی قشقایی فاطمه، روح‌افزا حمیدرضا، پورمقدس علی. آیا برنامه‌های باز توانی در زنان چاق مبتلا به بیماری قلبی مؤثرتر از گروه غیر چاق می‌باشد؟ مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۴): ۱۱۴۸-۱۱۴۲

مقدمه

چاقی و شیوه‌ی زندگی کم تحرک دو عامل خطر بسیار مهم برای بیماری عروق قلبی (CAD یا Coronary artery disease) در زنان می‌باشند (۱).

شیوع چاقی در زنان و مردان در جهان افزایش یافته است (۲-۳). چاقی بر اساس شاخص توده‌ی بدنی (Body mass index یا $BMI \leq 30$) و بر اساس نسبت وزن به مجذور قد (Kg/m^2) تعریف می‌شود (۴-۵، ۲).

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات باز توانی قلبی، پژوهشکده‌ی قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی دکترای تخصصی پژوهش، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، پژوهشکده‌ی قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، پژوهشکده‌ی قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشیار، مرکز تحقیقات نارسایی قلب، پژوهشکده‌ی قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

کرونر (CABG یا Coronary artery bypass grafting) اقدامات تهاجمی قلبی از طریق پوست (PCI یا Percutaneous coronary intervention) یا آنژین پایدار مزمن.

قبل از ورود به CR رضایت کتبی از تمام بیماران گرفته شد. قد (بدون کفش) و وزن هر بیمار توسط یک پرستار پس از ادرار کردن اندازه گیری شد. BMI با فرمول نسبت وزن (Kg) بر مجذور قد (m^2) اندازه گیری شد. بر اساس BMI بیماران به دو گروه چاق $BMI > 30$ و غیر چاق $BMI < 30$ تقسیم شدند. در ضمن، پروتکل Naughton جهت انجام آزمایش ورزش برای هر بیمار زیر نظر یک متخصص قلب استفاده شد. جهت تعیین FC و تغییرات همودینامیک و اندازه گیری Metabolic equivalent (Mets) آزمایش ورزش انجام شد.

برنامه‌ی باز توانی برای هر دو گروه به مدت ۲ ماه، ۲۴ جلسه (۳ بار در هفته برای ۸ هفته) بود که جلسات تمرین ورزشی، مشاوره، تغذیه و روان پزشکی و مدیریت عوامل خطر را شامل می‌شد. جلسات ورزشی برای زنان چاق و غیر چاق یکسان و شامل حرکات ایروبیک و مقاومتی بود. جلسات در مرکز باز توانی قلبی زیر نظر یک پزشک فیزیولوژیست ورزشی و یک پرستار انجام می‌شد. بیماران از تردمیل، دوچرخه و پله‌ی ثابت و وسایل مقاومتی استفاده کردند. هر جلسه، ۹۰ دقیقه طول می‌کشید که شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن و سپس ۶۰ دقیقه ایروبیک و تمرین مقاومتی و ۱۰ دقیقه سرد شدن و ۱۰ دقیقه ریلکس شدن بود.

شدت ورزش‌ها بر اساس وضعیت بالینی بیمار و مطابق با ۶۰-۸۵ درصد بالاترین ضربان قلب تعیین

از طرف دیگر، ظرفیت عملکردی (FC یا Functional capacity) پیشگویی کننده‌ی قوی عوارض و مرگ و میر در افراد مبتلا به CAD می‌باشد (۶). این بیماران محدودیت‌های قلبی-ریوی و عضلانی-اسکلتی دارند که توانایی آن‌ها برای ورزش و کارهای فیزیکی روزمره را کاهش می‌دهد (۶-۷). اکثر مطالعات، کاهش واضح خطرات را در بیماران CAD فعال در مقایسه با CAD غیر فعال نشان داده‌اند (۸-۱۰).

بر اساس مطالعات قبلی، برنامه‌های باز توانی قلبی (CR یا Cardiac rehabilitation programs) به عنوان درمان سازمان یافته شامل خدمات پزشکی، فیزیکی، روان‌شناسی و آموزشی، روشی ضروری برای بازگرداندن بیماران مبتلا به CAD به زندگی فعال، بهبود FC و تناسب اندام در بیماران قلبی است (۱۱-۱۳).

با وجود گزارش‌های فراوان در مورد اثرات مفید CR و ورزش روی FC، اطلاعات اندکی در مورد اثربخشی CR روی بیماران چاق قلبی به خصوص زنان در دسترس است.

بنابراین مطالعه‌ی حاضر به بررسی اثربخشی CR بر FC و کاهش وزن زنان چاق مبتلا به بیماری قلبی در مقایسه با زنان غیر چاق پرداخت.

روش‌ها

این مطالعه‌ی مشاهده‌ای در طی سال‌های ۹۲-۱۳۸۶، بر روی ۲۰۵ زن مبتلا به CAD مراجعه کننده به فاز دو مرکز باز توانی قلبی پژوهشکده‌ی قلب و عروق اصفهان انجام شد.

CAD این گونه تعریف شد: سابقه‌ی سکته قلبی (MI یا Myocardial infarction)، بای پس عروق

قابل توجهی FC و BMI را در هر دو گروه بهبود بخشید ($P < 0/030$). آزمون Independent t جهت مقایسه‌ی دو گروه بعد از CR به کار رفت. هر چند، تفاوت معنی‌داری بین FC در دو گروه وجود نداشت، اما تغییرات BMI در دو گروه به طور معنی‌داری تفاوت داشت ($P < 0/050$).

بحث

در این مطالعه نشان داده شد که ۸ هفته بازتوانی قلبی اثرات مفید روی FC و BMI در زنان چاق و غیر چاق داشت. علاوه بر این، مقایسه‌ی تغییرات در دو گروه بعد از CR نشان داد که BMI زنان چاق، بهبودی نسبی در مقایسه با زنان غیر چاق داشت. FC که از شاخص‌های اصلی پیشگویی کننده‌ی CAD می‌باشد، به طور واضحی تحت تأثیر چاقی است. در حقیقت، قبل از CR زنان چاق ظرفیت عملکردی کمتری نسبت به زنان با وزن طبیعی داشتند. اما بعد از انجام CR، این افراد اگر چه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان ندادند، اما تناسب (Fitness) بهتری داشتند. از این رو، این نتیجه‌گیری صحیح به نظر می‌آید که FC کمتر در ابتدا، سبب بهبود آن پس از CR است و از طرف دیگر، بهبود شاخص توده‌ی بدنی نیز می‌تواند سبب بهبود ظرفیت عملکردی آن‌ها باشد. اکثر مطالعات گذشته نیز نتایج مطالعه‌ی حاضر را تأیید می‌کنند (۱۴-۱۵، ۱۰-۱۱).

می‌شد. تمامی بیماران توسط مشاورین تغذیه، تحت مشاوره‌ی رژیم غذایی قرار گرفتند. بیماران، دوره‌ی CR را زیر نظر پزشکان، فیزیولوژیست ورزشی و پرستار سپری کردند. درمان‌های آنژین با همان دوز ادامه یافت و هیچ داروی کاهنده‌ی وزنی استفاده نشد. پس از دو ماه، تمام آزمایش‌ها برای هر بیمار تکرار شد. این مطالعه بر اساس استانداردهای اخلاق پزشکی انجام شد و در کمیته‌ی اخلاق پژوهش‌کده‌ی قلب و عروق اصفهان تأیید گردید.

داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۵ (version 15, SPSS Inc., Chicago, IL) وارد شد. آزمون Independent t برای بررسی تفاوت‌های پایه‌ای و Paired t برای بررسی تغییرات پس از CR استفاده شد. نتایج بر اساس میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد و $P < 0/050$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در کل، ۲۰۵ زن مبتلا به CAD بررسی شدند. در گروه چاق ($BMI > 30$) ۸۴ نفر با متوسط سن $57/6 \pm 7/94$ سال و در گروه غیر چاق ($BMI < 30$) ۱۲۱ نفر با متوسط سن $58/09 \pm 8/95$ سال شرکت کردند. آزمون Independent t نشان داد که به طور پایه‌ای بیماران چاق، FC کمتر از افراد غیر چاق داشتند ($P = 0/001$) (جدول ۱). بر اساس نتایج آزمون Paired t، CR به میزان

جدول ۱. تغییرات ظرفیت عملکردی و شاخص توده‌ی بدنی در بین افراد چاق و غیر چاق تحت بازتوانی قلبی

مقدار P	زنان غیر چاق		مقدار P	زنان چاق		
	بعد از بازتوانی	قبل از بازتوانی		بعد از بازتوانی	قبل از بازتوانی	
$< 0/010$	$8/70 \pm 2/53$	$6/96 \pm 2/44$	$< 0/010$	$7/87 \pm 2/08$	$5/94 \pm 1/68$	ظرفیت عملکردی (Mets)
$< 0/010$	$25/76 \pm 2/58$	$26/28 \pm 2/66$	$< 0/010$	$32/69 \pm 3/00$	$33/50 \pm 2/75$	شاخص توده بدنی (kg/m^2)

عملکردی کمتری هم در حالت پایه و هم در پیگیری‌های بعدی داشتند. این بیماران بهبود ظرفیت عملکردی کمتری در مقایسه با زنان غیر چاق در بررسی‌های بعدی داشتند. در کل، آن‌ها نشان دادند که زنان چاق نسبت به افراد غیر چاق اثر بخشی کمتری از CR را تجربه می‌کردند (۲۰). یک مطالعه‌ی دیگر نشان داد که CR، اثر بخشی کوتاه مدت در زمینه‌ی FC و BMI در زنان چاق مبتلا به CAD داشت (۲۱). Kiat و همکاران نشان دادند که CR باعث کاهش وزن نمی‌شود؛ اما FC را در بیماران CAD بهبود می‌بخشد (۲۲).

در کل، باید خاطر نشان کرد که Cardiac adaptation باعث افزایش اندازه‌ی قلب، حجم ضربه‌ای و برون‌ده قلبی می‌شود که باعث بهبود جریان خون به عضلات اسکلتی و افزایش اکسیژن رسانی بافتی می‌شود و در نهایت، تفاوت واضح مقدار اکسیژن خون شریانی و وریدی رخ می‌دهد که این فرایند در نهایت باعث افزایش ظرفیت ایروبیکی در عضلات ورزشی می‌شود. در ضمن، در نهایت با افزایش عروق عضلات اسکلتی و وازودیلاتاسیون عروق اپیکاردیال و کرونری، عضلات بدن نیز به ورزش عادت می‌کنند. این تغییرات فیزیولوژیک باعث بهبود تحمل ورزشی و تناسب اندام می‌شوند و علائم قلبی - ریوی را در زنان مبتلا به CAD کاهش می‌دهند (۲۳، ۷).

با توجه به یافته‌های این مطالعه و مطالعات مشابه، می‌توان گفت CR برنامه‌ریزی شده با برنامه‌های آموزشی می‌تواند در بیماران قلبی نقش اساسی را در کنترل چاقی و بهبود FC در هر دو گروه زنان چاق و غیر چاق بازی کند.

Ades نشان داد که ظرفیت ورزشی با بازتوانی قلبی بهبود می‌یابد. بنابراین تحمل ورزش روی تردمیل و مصرف اکسیژن بهبود می‌یابد و کارهای روزمره از جمله بالا رفتن از پله‌ها و حمل وسایل در بیماران قلبی بهتر می‌شود. Ades همچنین نشان داد که مصرف CRP (C-reactive protein) در این بیماران کاهش می‌یابد و رژیم همراه با ورزش، باعث کاهش BMI می‌شود (۱۶). همچنین Kennedy و همکاران نشان دادند که CRP باعث بهبودی عملکرد در همه‌ی سنین می‌شود. همچنین نشان داده شد که افزایش ظرفیت ورزشی با بهبود توانایی در انجام کارهای روزمره و کاهش خستگی همراه است (۱۷).

یک مطالعه نشان داد که ورزش‌های با مصرف بالای کالری در زنان چاق، باعث کاهش خطر بیشتری در مقایسه با ورزش‌های با مصرف انرژی کمتر بوده است (۸). همچنین Bocalini و همکاران نشان دادند که ورزش برنامه‌ریزی شده به عنوان روشی مهم و تأثیرگذار در بهبود FC در بیماران با نارسایی قلبی می‌باشد (۱۱). ۱۲ هفته ورزش مقاومتی باعث بهبود قدرت عضلانی و ظرفیت ورزشی در بیماران با نارسایی قلبی مزمن پایدار می‌شود (۹). Lavie و Milani نشان دادند که بر خلاف بیماران چاق، در بیماران غیر چاق تغییر واضح BMI رخ نداد (۱۸).

در مطالعه‌ی دیگر آزمایش پیاده‌روی ۶ دقیقه‌ای انجام و نشان داده شد که CR در بهبود FC و قدرت عضلانی در بیماران پس از CABG مؤثر است (۱۹).

از طرف دیگر، بر خلاف نتایج مطالعه‌ی حاضر، مطالعه‌ی دیگری نشان داد که بیماران چاق، ظرفیت

همه‌ی پزشکان و پرستاران پژوهشکده‌ی قلب و عروق اصفهان که در این مطالعه همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله به زبان انگلیسی در مجله‌ی آریا آترواسکلروز به چاپ رسیده است. بدین وسیله از

References

- Ades PA, Savage PD, Harvey-Berino J. The treatment of obesity in cardiac rehabilitation. *J Cardiopulm Rehabil Prev* 2010; 30(5): 289-98.
- Mosca L, Manson JE, Sutherland SE, Langer RD, Manolio T, Barrett-Connor E. Cardiovascular disease in women: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. Writing Group. *Circulation* 1997; 96(7): 2468-82.
- Bahrani H, Sadatsafavi M, Pourshams A, Kamangar F, Nouraei M, Semnani S, et al. Obesity and hypertension in an Iranian cohort study; Iranian women experience higher rates of obesity and hypertension than American women. *BMC Public Health* 2006; 6: 158.
- Canoy D, Boekholdt SM, Wareham N, Luben R, Welch A, Bingham S, et al. Body fat distribution and risk of coronary heart disease in men and women in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition in Norfolk cohort: a population-based prospective study. *Circulation* 2007; 116(25): 2933-43.
- Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation* 2006; 113(6): 898-918.
- Jehn M, Schmidt-Trucksass A, Schuster T, Weis M, Hanssen H, Halle M, et al. Daily walking performance as an independent predictor of advanced heart failure: Prediction of exercise capacity in chronic heart failure. *Am Heart J* 2009; 157(2): 292-8.
- Ades PA, Waldmann ML, Meyer WL, Brown KA, Poehlman ET, Pendlebury WW, et al. Skeletal muscle and cardiovascular adaptations to exercise conditioning in older coronary patients. *Circulation* 1996; 94(3): 323-30.
- Manson JE, Lee IM. Exercise for women--how much pain for optimal gain? *N Engl J Med* 1996; 334(20): 1325-7.
- Pate RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Macera CA, Bouchard C, et al. Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA* 1995; 273(5): 402-7.
- Manzoni GM, Villa V, Compare A, Castelnovo G, Nibbio F, Titon AM, et al. Short-term effects of a multi-disciplinary cardiac rehabilitation programme on psychological well-being, exercise capacity and weight in a sample of obese in-patients with coronary heart disease: a practice-level study. *Psychol Health Med* 2011; 16(2): 178-89.
- Bocalini DS, dos SL, Serra AJ. Physical exercise improves the functional capacity and quality of life in patients with heart failure. *Clinics (Sao Paulo)* 2008; 63(4): 437-42.
- Leon AS, Franklin BA, Costa F, Balady GJ, Berra KA, Stewart KJ, et al. Cardiac rehabilitation and secondary prevention of coronary heart disease: an American Heart Association scientific statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity), in collaboration with the American association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation. *Circulation* 2005; 111(3): 369-76.
- Thompson PD, Buchner D, Pina IL, Balady GJ, Williams MA, Marcus BH, et al. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation* 2003; 107(24): 3109-16.
- Balady GJ, McInnis KJ. Cardiac rehabilitation in obese patients. *Chest* 1996; 109(1): 3-4.
- Binder RK, Barth J, Schmid JP, Saner H. Burden of abdominal obesity in cardiac rehabilitation patients: Results from the Swiss CaRe study. *Swiss Med Wkly* 2011; 141: w13153.
- Ades PA. Cardiac rehabilitation and secondary

- prevention of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2001; 345(12): 892-902.
17. Kennedy MD, Haykowsky M, Daub B, Van LK, Knapik G, Black B. Effects of a comprehensive cardiac rehabilitation program on quality of life and exercise tolerance in women: A retrospective analysis. *Curr Control Trials Cardiovasc Med* 2003; 4(1): 1.
 18. Lavie CJ, Milani RV. Effects of cardiac rehabilitation and exercise training in obese patients with coronary artery disease. *Chest* 1996; 109(1): 52-6.
 19. Steki Ghashghaei F, Taghian F, Najafian J, Marandi M, Ramezani MR, Moastafavi S, et al. effect of cardiac rehabilitation on functional capacity of patients after cardiac surgery by assessing 6-minute walking tes. *ARYA Atherosclerosis Journal* 2010; 5(4): 147-51.
 20. Gunstad J, Luyster F, Hughes J, Waechter D, Rosneck J, Josephson R. The effects of obesity on functional work capacity and quality of life in phase II cardiac rehabilitation. *Prev Cardiol* 2007; 10(2): 64-7.
 21. Gondoni LA, Titon AM, Nibbio F, Caetani G, Augello G, Mian O, et al. Short-term effects of a hypocaloric diet and a physical activity programme on weight loss and exercise capacity in obese subjects with chronic ischaemic heart disease: a study in everyday practice. *Acta Cardiol* 2008; 63(2): 153-9.
 22. Kiat A, Cook E, Kiat H. Weight loss and fitness in patients with coronary artery disease through cardiac rehabilitation—A long-term follow-up. *Heart, Lung and Circulation* 2009; 18(Suppl 3): S263.
 23. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, Linke A, Hofer J, Erbs S, et al. Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 342(7): 454-60.

Is Rehabilitation Program More Effective in Obese Women with Coronary Artery Disease?

Jafar Golshahi MD¹, Masoumeh Sadeghi MD¹, Fatemeh Esteki Ghashghaei MSc²,
Hamidreza Roohafza MD³, Ali Pourmoghaddas MD⁴

Original Article

Abstract

Background: Obesity and sedentary lifestyle are known as important risk factors of coronary artery disease. The prevalence of obesity has increased among both men and women in the world. Therefore, the present study tried to evaluate the effectiveness of a cardiac rehabilitation program on functional capacity and body mass index (BMI) in obese and non-obese women with coronary artery disease.

Methods: In an observational study during 2007-13, we evaluated a total of 205 women with coronary artery disease who referred to the cardiac rehabilitation unit of Isfahan Cardiovascular Research Institute, Isfahan, Iran. BMI and functional capacity of each patient were assessed before and after the program. The patients were categorized as obese or non-obese based on their BMI. All participants completed the full course of the program. Data were analyzed using independent t and paired-t tests.

Findings: An 8-week cardiac rehabilitation program had significant effects on functional capacity in obese and non-obese female patients ($P < 0.01$ for both). The program also resulted in BMI improvements in both groups ($P < 0.01$ for both). Comparing the changes in the two groups did not reveal any significant differences in functional capacity. However, the two groups were significantly different in terms of BMI changes.

Conclusion: Cardiac rehabilitation programs are a major step in restoration of functional capacity and improvement of BMI in obese and non-obese women with coronary artery disease.

Keywords: Cardiac rehabilitation program, Coronary artery disease, Obesity, Functional capacity, Body mass index

Citation: Golshahi J, Sadeghi M, Esteki Ghashghaei F, Roohafza H, Pourmoghaddas A. **Is Rehabilitation Program More Effective in Obese Women with Coronary Artery Disease?** J Isfahan Med Sch 2014; 32(294): 1142-8

1- Associate Professor, Cardiac Rehabilitation Research Center, Isfahan Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- PhD Candidate, Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Assistant Prof, Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Associate Professor, Heart Failure Research Center, Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Masoumeh Sadeghi MD, Email: sadeghimasoumeh@gmail.com

بررسی تأثیر هیپوکلریت سدیم ۰/۰۲۵ درصد و بتادین ۱ درصد بر مدت ترمیم زخم سوختگی

فاطمه حدادی^۱، دکتر سیما یادگاری^۲، دکتر فریدون عابدینی^۳

مقاله کوتاه

چکیده

مقدمه: شستشوی زخم و ضایعات ایجاد شده در سوختگی یکی از ارکان مهم درمان است که برای رسیدن به این هدف باید ماده‌ی ضد عفونی کننده‌ی مناسب و رقت مؤثر به کار رود. در حال حاضر، توسط پرسنل درمانی برای ترمیم زخم سوختگی پانسمان‌های گوناگونی انجام می‌شود. به همین منظور، این مطالعه جهت تعیین تأثیر به کارگیری پانسمان‌ها با هیپوکلریت ۰/۰۲۵ درصد و بتادین ۱ درصد بر ترمیم زخم سوختگی انجام شد.

روش‌ها: بیماران بستری در رده‌ی سنی ۱۸-۴۵ سال مبتلا به سوختگی ۲۰-۴۵ درصد، در دو گروه درمان با بتادین ۱ درصد و هیپوکلریت ۰/۰۲۵ درصد قرار گرفتند و بیماران تا روز بهبودی زخم پیگیری شدند. افراد دو گروه به یک صورت پانسمان شدند و پانسمان زخم‌ها به طور روزانه تا ترمیم کامل زخم انجام گرفت. زمانی که زخم ظاهری صورتی رنگ و شفاف، بدون ترشح و دارای بافت پوششی داشت، زخم ترمیم یافته محسوب می‌شد (۷). بیماران در طی درمان از نظر بروز علائم عفونت از جمله گرمی، تغییر رنگ و قرمزی، ترشح مایع از ناحیه‌ی سوختگی و تب، مورد بررسی قرار گرفتند و در پایان زمان ترمیم زخم و زمان نیاز به گرافت و وسعت ناحیه‌ی گرافت توسط پزشک جراح اعلام می‌شد و در چک لیست ثبت می‌گردید و پزشک جراح از نوع محلول ضد عفونی مورد استفاده جهت نمونه‌ها اطلاع نداشت.

یافته‌ها: در این مطالعه در مجموع ۵۰ بیمار سوختگی از معیارهای ورود به پژوهش برخوردار بودند. آزمون Fisher's exact نشان داد که فراوانی نیاز به گرافت در گروه هیپوکلریت به طور معنی‌داری کمتر از گروه بتادین بود ($P = ۰/۰۴۰$). آزمون t مستقل نشان داد که میانگین مدت زمان ترمیم زخم در گروه هیپوکلریت به طور معنی‌داری کمتر از گروه بتادین بود ($P = ۰/۰۰۳$). همچنین بر اساس نتایج این آزمون، میانگین سطح گرافت در گروه هیپوکلریت به طور معنی‌داری کمتر از گروه بتادین بود ($P = ۰/۰۰۴$).

نتیجه‌گیری: استفاده از هیپوکلریت در مقایسه با بتادین، مدت زمان ترمیم زخم، نیاز به گرافت، مدت زمان بستری و هزینه‌های درمان را کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: هیپوکلریت، بتادین، ترمیم زخم

ارجاع: حدادی فاطمه، یادگاری سیما، فریدون عابدینی. بررسی تأثیر هیپوکلریت سدیم ۰/۰۲۵ درصد و بتادین ۱ درصد بر مدت ترمیم زخم سوختگی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۴): ۱۱۵۵-۱۱۴۹

مقدمه

سوختگی حادثه‌ای مخرب و دردناک و سانحه‌ای انباشته از جراحات و زخم است که همه روزه جامعه‌ی بشری را به اشکال مختلف تهدید می‌کند. سوختگی بیماری مزمنی است که جزء تروماها

محسوب می‌شود و زخم‌های آن بر اساس معیارهای مختلف ارزیابی می‌شوند. از جمله سطح سوختگی، عمق سوختگی، شدت سوختگی و میزان و نوع ترشحات زخم، عوامل کلیدی برای انتخاب مناسب نوع پانسمان می‌باشند (۱).

۱- کارشناس ارشد، بخش اورژانس، بیمارستان امام موسی کاظم (ع)، اصفهان، ایران

۲- متخصص عفونی، بیمارستان امام موسی کاظم (ع)، اصفهان، ایران

۳- متخصص جراحی، بیمارستان امام موسی کاظم (ع)، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤؤل: فاطمه حدادی

Lister در سال ۱۸۶۷ برای اولین بار در مقاله‌ای به جراحان دیگر پیشنهاد داد که قبل و بعد جراحی از اسید کاربویلیک استفاده کنند. در آن زمان، اسید کاربویلیک تنها میکروب‌کش و ماده‌ی ضد عفونی کننده‌ی شناخته شده بود. از آن زمان تا امروز، مواد ضد عفونی کننده‌ی فراوانی ساخته شده‌اند. از آن جایی که پوست بدن مهم‌ترین منبع آلودگی زخم‌ها به حساب می‌آید، استفاده از مواد ضد عفونی مؤثرتر، به میزان قابل توجهی می‌تواند از عفونت زخم‌ها بکاهد (۵). در سال ۱۷۸۵ سدیم هیپوکلریت توسط Berthollet فرانسوی ساخته شد و برای ضد عفونی کردن سطوح اتاق‌ها و از بین بردن لکه‌ی لباس‌ها استفاده می‌شد (۶).

امروزه هیپوکلریت برای مصارفی همچون سفید کنندگی، ضد عفونی کردن، دندان‌پزشکی و اکسیداسیون استفاده می‌شود. Lindberg در سال ۱۹۹۱ تاثیر هیپوکلریت سدیم را در غلظت‌های ۰/۲۵ درصد، ۰/۱۲۵ درصد، ۰/۰۲۵ درصد روی زخم بررسی کرد و به این نتیجه رسید که بهترین غلظت جهت ضد عفونی کردن زخم، محلول ۰/۰۲۵ درصد می‌باشد و غلظت کمتر از این حد، خاصیت سمی ندارد و همچنین خاصیت ضد باکتریایی و باکتری‌کشی نیز ندارد (۷). Herndon توصیه می‌کند محلول ساختگی ۰/۰۲۵ درصد NaOCl فقط تا ۲۴ ساعت بعد از رقیق‌سازی، اثر مفید و باکتری‌کشی روی زخم دارد (۸).

روش‌ها

جهت انجام پژوهش، در ابتدا پژوهشگر با در دست داشتن معرفی‌نامه‌ی کتبی از دانشکده‌ی پزشکی به بیمارستان امام موسی کاظم (ع) مراجعه و پس از

تمامی زخم‌های سوختگی طی ۷۲ ساعت پس از حادثه با باکتری‌های بدن خود بیمار یا محیط اطرافش آلوده می‌شوند. باکتری‌ها در سطح سوخته تجمع و شروع به رشد می‌کنند و می‌توانند در بافت مرده‌ی بدون عروق آن نفوذ کنند. زخم‌های عمیق باید از تهاجم اولیه‌ی باکتری‌ها محافظت شوند؛ چرا که این عفونت‌ها می‌توانند به سرعت بافت زیرین را تخریب و آسیب را تشدید کنند (۲). برخی از آنتی‌بیوتیک‌های موضعی با قدرت حلالیت در آب و توان نفوذ در بافت ایشار (Eschar) می‌توانند تا حدودی از رشد باکتری‌ها در زخم جلوگیری کنند. با گرایش روز افزون در استفاده از مواد شیمیایی برای مقاصد گندزدایی و ضد عفونی از یک سو و همچنین تنوع زیاد این گونه مواد از سوی دیگر، نیاز بیشتری به تحقیق و بررسی احساس می‌شود.

شستشوی زخم و ضایعات ایجاد شده در سوختگی، یکی از ارکان مهم درمان است که برای رسیدن به این هدف، باید ماده‌ی ضد عفونی کننده‌ی مناسب و رقت مؤثر به کار رود. در سال ۱۸۲۵، مواد کلردار برای نخستین بار جهت جلوگیری از عفونت زخم استفاده شد و به تدریج برای ضد عفونی کردن آب و شستشوی دست‌ها در بیمارستان‌ها به کار رفت (۳). در حال حاضر توسط پرسنل درمانی برای ترمیم زخم سوختگی پانسمان‌های گوناگونی انجام می‌شود. شاید بتوان با استفاده از نتایج این مطالعه، هزینه‌ی تحمیل شده بر بیمار و سیستم درمانی را کاست. از این رو، مطالعه‌ی حاضر جهت تعیین تأثیر به کارگیری پانسمان‌ها با هیپوکلریت ۰/۰۲۵ درصد و بتادین ۱ درصد بر ترمیم زخم سوختگی انجام شد.

شرح روند و اهداف تحقیق، همکاری مسئولین را جلب نمود. قبل از شروع مطالعه، رضایت نامه ی کتبی از بیماران گرفته شد.

این مطالعه یک کارآزمایی بالینی بود که در مجموع، ۵۰ بیمار سوختگی واجد معیارهای ورود به پژوهش، به روش یک سو کور انتخاب شدند. جهت جمع آوری نمونه‌ها، از چک لیست استفاده شد که شامل دو بخش بود: بخش اول مربوط به اطلاعات دموگرافیک بیماران شامل سن، جنس، تاریخ و ساعت سوختگی، عمق و درصد سوختگی بود. بخش دوم در برگیرنده ی اطلاعات مربوط به میزان وسعت گرفت، تعداد روزهای بستری، تاریخ گرفت، تعداد اعمال جراحی و زمان پایان ترمیم زخم بود.

نمونه گیری حدود ۴ ماه به طول انجامید که از ۱۲ دی ۱۳۹۰ آغاز شد و در ۱۷ فروردین ۱۳۹۱ به پایان رسید. بیماران بستری در رده ی سنی ۴۵-۱۸ سال با سوختگی ۴۵-۲۰ درصد شناخته شدند. این بیماران، در بدو ورود میزان هموگلوبین حداقل ۱۲ mg در ۱۰۰ cc و پروتئین سرم حداقل ۶ mg در ۱۰۰ cc داشتند و حداکثر ۴۸ ساعت از زمان سوختگی آن‌ها نگذشته بود. بیماران به طور هماهنگ از نظر سن و جنس و درصد و درجه ی سوختگی در دو گروه بتادین ۱ درصد و هیپوکالریت ۰/۰۲۵ درصد قرار گرفتند و تا روز بهبودی زخم، پیگیری شدند.

جهت تهیه ی بتادین ۱ درصد، ۱۰ cc از محلول بتادین ۱۰ درصد در ۱ I سرم شستشو ریخته شد و بتادین ۱ درصد به دست آمد که قبل از پانسمان، زخم بیمار با آن ضد عفونی می شد. جهت تهیه ی محلول هیپوکالریست ۰/۰۲۵ درصد، ۴/۵ cc از محلول هیپوکالریست سدیم ۱۴ درصد همراه با ۲۳/۴ g نمک

فسفات دی هیدروژن سدیم در ۱ I آب مقطر استریل ریخته شد و محلول هیپوکالریست سدیم ۰/۰۲۵ درصد به دست آمد (۳) که با آن، قبل از پانسمان، زخم بیمار ضد عفونی می شد.

دو گروه به یک صورت پانسمان می شدند و پانسمان زخم‌ها به طور روزانه تا ترمیم کامل زخم انجام می گرفت. زمانی که زخم ظاهری صورتی رنگ و شفاف، بدون ترشح و دارای بافت پوششی داشت، زخم ترمیم یافته محسوب می شد (۹). همچنین بیماران در طی درمان از نظر بروز علایم عفونت از جمله گرمی، تغییر رنگ، قرمزی، ترشح مایع از ناحیه ی سوختگی و تب، مورد بررسی قرار می گرفتند و در پایان زمان ترمیم زخم و زمان نیاز به گرفت و وسعت ناحیه ی گرفت توسط پزشک جراح اعلام می شد و در چک لیست ثبت می گردید؛ در حالی که پزشک جراح از نوع محلول ضد عفونی کننده ی کاربردی جهت نمونه‌ها اطلاع نداشت.

در این مطالعه از آمار توصیفی از قبیل شاخص‌های مرکزی و پراکنندگی و توزیع فراوانی و نیز آزمون‌های Fisher's exact، χ^2 و t مستقل استفاده شد.

یافته‌ها

در گروه بتادین، میانگین سن بیماران $33/2 \pm 6/7$ سال (محدوده ی ۲۱-۴۳ سال) و در گروه هیپوکالریت، میانگین سن بیماران $33/0 \pm 9/1$ سال (محدوده ی ۱۹-۴۵ سال) بود. آزمون t مستقل نشان داد که میانگین سن در دو گروه با هم اختلاف معنی دار نداشت ($P = 0/930$).

تعداد مردان در گروه‌های بتادین و هیپوکالریت به ترتیب ۲۰ نفر (۸۰ درصد) و ۱۶ نفر (۶۴ درصد) و

تعداد زنان به ترتیب ۵ نفر (۲۰ درصد) و ۹ نفر (۳۶ درصد) بود. بر این اساس، بیشترین مراجعه کنندگان سوختگی، مذکر بودند. در ضمن، آزمون χ^2 نشان داد که توزیع فراوانی جنس در دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت ($P = ۰/۲۱۰$).

جدول ۱. توزیع فراوانی محل سوختگی در دو گروه

ناحیه‌ی سوختگی	گروه بتادین تعداد (درصد)	گروه هیپوکالریت تعداد (درصد)
اندام فوقانی	۶ (۲۴)	۶ (۲۴)
اندام تحتانی	۷ (۲۸)	۳ (۱۲)
پراکنده	۱۲ (۴۸)	۱۶ (۶۴)
جمع	۲۵ (۱۰۰)	۲۵ (۱۰۰)

جدول ۱ نشان می‌دهد که سوختگی به صورت پراکنده در هر دو گروه بیشتر بود و آزمون χ^2 نشان داد که توزیع فراوانی محل سوختگی در دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت ($P = ۰/۳۴۰$). میزان سوختگی در بیماران گروه بتادین $۶/۸ \pm ۳۴/۲$ درصد (در محدوده‌ی ۲۵-۴۵ درصد) و در بیماران گروه هیپوکالریت $۶/۴ \pm ۳۶/۱$ درصد (در

محدوده‌ی ۲۵-۴۵ درصد) بود. آزمون t مستقل نشان داد که میانگین درصد سوختگی در دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت ($P = ۰/۳۲۰$).

با توجه به نتایج به دست آمده در جدول ۲، آزمون Fisher's exact نشان داد که فراوانی نیاز به گرافت در گروه هیپوکالریت به طور معنی‌داری کمتر از گروه بتادین بوده است ($P = ۰/۰۴۰$).

میانگین \pm انحراف معیار مدت زمان ترمیم زخم و همچنین محدوده‌ی آن در دو گروه بتادین و هیپوکالریت به ترتیب $۳/۶ \pm ۱۶/۴$ روز (با محدوده‌ی ۹-۲۷ روز) و $۲/۷ \pm ۱۳/۱۸$ روز (با محدوده‌ی ۷-۱۸ روز) بود. آزمون t مستقل نشان داد که میانگین مدت زمان ترمیم زخم در گروه هیپوکالریت به طور معنی‌داری کمتر از گروه بتادین بود ($P = ۰/۰۰۳$).

با توجه به نتایج به دست آمده در جدول ۳، آزمون t مستقل نشان داد که میانگین سطح گرافت در گروه هیپوکالریت به طور معنی‌داری کمتر از گروه بتادین بود ($P = ۰/۰۰۴$).

جدول ۲. فراوانی انجام عمل گرافت در دو گروه بتادین و هیپوکالریت

دفعات عمل گرافت	عمل گرافت در گروه بتادین تعداد (درصد)	عمل گرافت در گروه هیپوکالریت تعداد (درصد)
یک بار	۲۰ (۸۰)	۲۴ (۹۶)
بیش از یک بار	۵ (۲۰)	۱ (۴)
جمع	۲۵ (۱۰۰)	۲۵ (۱۰۰)

جدول ۳. میانگین سطح گرافت در دو گروه بتادین و هیپوکالریت

گروه	سطح گرافت	میانگین \pm انحراف معیار (cm ^۲)	حداقل (cm ^۲)	حداکثر (cm ^۲)
گروه بتادین		$۸۱۶/۰ \pm ۳۳۶/۶$	۴۰۰	۱۴۰۰
گروه هیپوکالریت		$۵۷۰/۰ \pm ۲۳۷/۱$	۱۵۰	۹۰۰

بحث

این پژوهش یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی بود که در آن تأثیر هیپوکلیت سدیم ۰/۰۲۵ درصد و بتادین ۱ درصد بر ترمیم زخم سوختگی به صورت مقایسه‌ای بررسی شد. جامعه‌ی پژوهش بیماران سوختگی بستری در بیمارستان امام موسی کاظم (ع) دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بودند. در این پژوهش، ۵۰ بیمار به روش متوالی انتخاب شدند. برای جمع‌آوری اطلاعات از چک لیست استفاده شد.

یافته‌ها در این مطالعه حاکی از آن است که بیشترین تعداد مراجعه کنندگان سوختگی در دو گروه، مذکر بودند. در تأیید این نتایج، می‌توان به مطالعه‌ی Darton اشاره کرد که در آن ۶۱ درصد بیماران مذکر و ۳۹ درصد مؤنث بودند (۱۰). در مطالعه‌ی انجام شده توسط Olabanji و Oladele (۱۱) ۵۶ درصد بیماران مذکر و ۴۴ درصد مؤنث بودند که با مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد. به طور کلی، به نظر می‌رسد در جامعه‌ی ما به دلیل بافت فرهنگی و اقتصادی-اجتماعی و حضور بیشتر مردان در فعالیت‌های روزمره‌ی زندگی، بالا بودن تعداد مردان درگیر با سوانح سوختگی، قابل توجهی می‌باشد. در مطالعه‌ی حاضر، سوختگی به صورت پراکنده در دو گروه بیشتر بود و این در حالی است که در یک مطالعه‌ی توصیفی-مقطعی در بیمارستان شهید مطهری تهران توسط مقدم ارجمند، موضع سوختگی در اغلب بیماران (۲۵ درصد) در سر و گردن، اندام فوقانی و بالا تنه بوده است (۱۲).

در مطالعه‌ی حاضر میانگین درصد سوختگی در گروه بتادین ۳۴/۲ درصد و در گروه هیپوکلیت ۳۶/۱ درصد بود. در مطالعه‌ی Jayaraman

متوسط سطح سوختگی ۲۰ درصد بود (۱۳). در مطالعه‌ی حاضر، در گروه هیپوکلیت به طور معنی داری نیاز به گرافت کمتر از گروه بتادین بود (P = ۰/۰۰۴). در مطالعه‌ی Lowe و همکاران، استفاده از بتادین در محل عمل بیماران، باعث قرمزی و التهاب و به دنبال آن، سوختگی شیمیایی شده بود (۱۴).

در مطالعه‌ی مقدم ارجمند استفاده از هیپوکلیت سدیم با غلظت ۷۸۰-۱۲۰ mg/l، برای حذف همه‌ی باکتری‌های تانک هیدروتراپی و کاهش تعداد باکتری‌های پوست سوخته و سالم مؤثر بوده است (۱۲).

در این مطالعه، میانگین مدت زمان ترمیم زخم در گروه بتادین ۱۶/۴ و در گروه هیپوکلیت ۱۳/۸ بود (P = ۰/۰۰۳). در مطالعه‌ی Lowe و همکاران در کانادا، استفاده از بتادین در محل عمل بیمارانی که کاندیدای عمل جراحی لاپاراسکوپی و سیستوستومی بودند، زمان ترمیم محل جراحی را ۳-۴ هفته به تأخیر انداخته بود (۱۴).

در مجموع با توجه به یافته‌های این مطالعه و سایر مطالعات مشابه، می‌توان گفت استفاده از هیپوکلیت در مقایسه با بتادین، مدت زمان ترمیم زخم، نیاز به گرافت، مدت زمان بستری و هزینه‌های درمان را کاهش می‌دهد.

در این گونه مطالعات، لازم است حجم بیشتری از بیماران مورد مطالعه قرار گیرند که با توجه به امکانات و توان این مطالعه، چنین فرصتی مهیا نشد و این امر از محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر به شمار می‌رود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارکنان محترم دانشگاه علوم پزشکی

اصفهان و کارکنان محترم بیمارستان سوانح سوختگی اصفهان و نیز تمامی عزیزانی که به نحوی در انجام

این مطالعه یاری رساندند سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Bunyan J. The treatment of burns by hypochlorite solution. *J Trop Pediatr* 1983; 29(2): 93-4.
2. Smith RF, Blasi D, Dayton SL, Chipps DD. Effects of sodium hypochlorite on the microbial flora of burns and normal skin. *J Trauma* 1974; 14(11): 938-44.
3. Desai MH, Rutan RL, Herndon DN. Conservative treatment of scald burns is superior to early excision.. *J Burn Care Rehabil* 1991; 12(5): 482-4.
4. Lister J. An address on the antiseptic system of treatment in surgery. *Br Med J* 1868; 2(394): 53-6.
5. O'Connell Smeltzer SC, Bare BG, Brunner LS, Suddarth DS. Brunner and Suddarth's textbook of medical-surgical nursing. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 1988.
6. Lenntech: Water Treatment and Purification. disinfectants sodium hypochlorite [Online]. [cited 2014]; Available from: URL: <http://www.lenntech.com/processes/disinfection/chemical/disinfectants-sodium-hypochlorite.htm>
7. Heggers JP1, Sazy JA, Stenberg BD, Strock LL, McCauley RL, Herndon DN, et al. Bactericidal and wound-healing properties of sodium hypochlorite solutions: the 1991 Lindberg Award. *J Burn Care Rehabil* 1991; 12(5): 420-4.
8. Herndon DN. Total Burn Care. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2007. p. 250-1.
9. Xiang Xu R. Burns Regenerative Medicine and Therapy. Switzerland, Geneva: Karger Medical and Scientific Publishers; 2004.
10. Darton A. Demographics and Epidemiology of New South Wales burns patients treated at the three tertiary burn referral centres [Online]. [cited 2010 Jun 22]; Available from: URL: <http://www.valor.com.tr/isbi2010/sozel.html>
11. Oladele AO, Olabanji JK. Burns in Nigeria: a Review. *Ann Burns Fire Disasters* 2010; 23(3): 120-7.
12. Moghadamarjmand M. Prevent of infection burn. Proceedings of National Congress of Burn Injuries. 2002 Dec 1-3; Tehran, Iran.
13. Jayaraman RS. A challenging case of total phalloplasty. *Indian J plast Surg* 2010; 45(1): 148-50.
14. Lowe DO, Knowles SR, Weber EA, Railton CJ, Shear NH. Povidone-iodine-induced burn: case report and review of the literature. *Pharmacotherapy* 2006; 26(11): 1641-5.

The Effect of Hypochlorite 0.025% and Povidine Iodine 1% on Burn Healing

Fatemeh Hadadi MSc¹, Sima Yadegari MD², Fereidon Abedini MD³

Short Communication

Abstract

Background: Washing the burn wound is one of the key factors in burn healing. To achieve this goal, the disinfectant should be appropriate with effective dilution. There are various dressings for burn wound healing. The purpose of this study was to determine the effects of using hypochlorite and povidine iodine (betadine) dressings on burn wound healing.

Methods: Patients aged 18-45 years with 20-45% of burn who were hospitalized were treated with hypochlorite 0.025% or and povidine iodine 1% in two groups. Both groups had a bandaged face, and wound dressing daily until the complete healing was achieved. When the wound was pink with translucent appearance, lining and no spatter, the wound healing was considered to be complete. The required time for healing of the graft and the graft area were declared and recorded by the surgeon who was blind to the used disinfectant.

Findings: 50 patients had the inclusion criteria. Fisher's exact test showed that the need to graft was significantly lower in hypochlorite group ($P = 0.040$). Independent-t test showed that the mean time for wound healing ($P = 0.004$) and the mean graft area ($P = 0.003$) were significantly lower in hypochlorite group, too.

Conclusion: Results showed that the use of hypochlorite reduces the duration of hospitalization and treatment costs and reduces healing time and the need to graft.

Keywords: Hypochlorite, Povidine, Burn healing

Citation: Hadadi F, Yadegari S, Abedini F. **The Effect of Hypochlorite 0.025% and Povidine Iodine 1% on Burn Healing.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(294): 1149-55

1- Department of Emergency, Imam Musa Kazem Hospital, Isfahan, Iran

2- Infectious Disease Specialist, Imam Musa Kazem Hospital, Isfahan, Iran

3- Surgeon, Imam Musa Kazem Hospital, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Fatemeh Hadadi MSc, Email: hadadesoh@yahoo.com

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

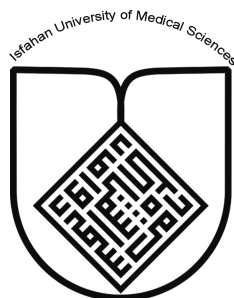
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

INSTRUCTION TO AUTHORS

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

Editorial Board (In alphabetical order)

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



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 294, 3rd week, September 2014

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:

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

Telefax: +98 311 7922291

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

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

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

Telefax: +98 311 6686302

E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexes

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

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

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