دارای رتبه علمی-پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

JOURNAL OF
ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

شماره استاندارد بین المللی: ۱۰۲۷-۷۵۹۵
شماره استاندارد آن لاین: ۱۷۳۵-۸۵۴x

هفته‌نامه

سال سی و هفتم/شماره ۵۴۲/ هفته دوم آبان ۱۳۹۸

Print ISSN: 1027-7595
Online ISSN: 1735-854x

Weekly Vol. 37, No. 542, 2nd Week, November 2019

مقاله‌های پژوهشی

بررسی بیان miR-125b و ژن‌های ضد آپوپتوز MCL-1 و BCL-2 به دنبال تیمار با والپروئیک اسید در رده‌های سلولی سرطان پستان ۱۰۶۱
نسترن اینجیاری، زینب امینی فارسانی، حسین تیموری

ارزیابی تأثیر ویتامین C در پیش‌گیری از سمیت کلیوی ناشی از وانکومایسین: یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی ۱۰۶۸
محمدرضا یزدانی، رسول سلطانی، فرزین خوروش، محسن گودرزی، شعله یعقوبی

بررسی تأثیر نشانگرهای تومور ER، Her2 و Ki67 بر روی بقای بلند مدت و کوتاه مدت زنان مبتلا به سرطان پستان با استفاده از مدل شفا یافته‌ی Bayesian ۱۰۷۴
مرتضی محمدزاده، حسین فلاح‌زاده، نیما پهلوانی، فریبا بینش، ویدا پهلوانی

Original Articles

Expression of miR-125 and MCL-1 and BCL-2 Anti-apoptotic Genes under the Influence of Valproic Acid Treatment in Breast Cancer Cell Lines 1067
Nastaran Injinari, Zeinab Amini-Farsani, Hossein Teimori

The Effect of Vitamin C in Preventing Vancomycin-Induced Nephrotoxicity; A Randomized Clinical Trial Study 1073
Mohamadreza Yazdani, Rasoul Soltani, Farzin Khorvash, Mohsen Gudarzi, Sholeh Yaghoubi

The Effect of Tumor Markers ER, Her2, and Ki67 on Long-Term and Short-Term Survival of Women with Breast Cancer Using Bayesian Cure Model 1079
Morteza Mohammadzadeh, Hossein Fallahzadeh, Nima Pahlavani, Fariba Binesh, Vida Pahlavani

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و هفتم، شماره (۵۴۲)، هفته دوم آبان ماه ۱۳۹۸

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی استان اصفهان

مدیر مسؤول: دکتر سید مرتضی حیدری **سردبیر افتخاری: دکتر رویا کلیشادی**

سردبیر: دکتر رضا خدیوی

صاحب امتیاز:
دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
Email: publications@mui.ac.ir
دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶
مدیر اجرایی: علی مرادی مسؤول دفتر: گلناز رجبی
تلفن: ۳۶۶۹۴۷۳۷-۰۳۱ **دورنگار:** ۳۷۹۲۲۲۹۱-۰۳۱
Email: jims@med.mui.ac.ir
وب سایت مجله: http://jims.mui.ac.ir

ناشر:
انتشارات وسنا (فرزانگان راداندیش)
Email: farapublications@gmail.com
http://farapub.com
تلفن: ۳۲۲۲۴۳۳۵-۰۳۱
دورنگار: ۳۲۲۲۴۳۸۲-۰۳۱
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 محمد رضا اخلاقی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر علی اخوان	استادیار، متخصص پرتودرمانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، فوق تخصص غدد، بیمارستان‌های دانشگاهی مرکز پزشکی کلیولند، آمریکا
۵- دکتر احمد اسماعیل‌زاده	استاد، دکترای تخصصی تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- دکتر افسون امامی نائینی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۷- دکتر شاهین امامی	گروه بیوشیمی، بیمارستان سن‌آنتونیو، پاریس، فرانسه
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، فوق تخصص بیماری‌های ایمونولوژی وآلرژی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر فریبا ایرجی	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۱- دکتر کن باست	استاد، متخصص ابتکارات درمانی، دانشگاه بریتیش کلمبیا، کانادا
۱۲- دکتر رضا باقریان سرارودی	دانشیار، دکترای تخصصی روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- دکتر مجید برکتین	استاد، متخصص روانپزشکی، فلوشیپ نوروسایکیاتری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۴- دکتر فرزین پور فرزاد	دکترای تخصصی زیست شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند
۱۵- دکتر مسعود پورمقدس	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر احمد چیت‌ساز	استاد، متخصص مغز و اعصاب، فلوشیپ بیماری‌های حرکتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۷- دکتر علی حکمت نیا	استاد، متخصص رادیولوژی، فلوشیپ رادیولوژی مغز واعصاب و کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۸- دکتر سید مرتضی حیدری	استاد، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۹- دکتر مجید خیراللهی	دانشیار، دکترای تخصصی ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر بهناز خانی	دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر مریم راداحمدی	دانشیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۳- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۴- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۵- دکتر محمدرضا شریفی	استاد، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۶- دکتر منصور شعله‌ور	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۷- دکتر رسول صالحی	استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر مسیح صبوری	استاد، متخصص جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر محمدرضا صفوی	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۰- دکتر خسرو عادلی	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۳۱- دکتر سعید عندلیب جورتانی	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لویس ویل، آمریکا
۳۲- دکتر زیبا فرج‌زادگان	استاد، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۳- دکتر رویا کلیشادی	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۵- دکتر عزیز گهری	استاد، متخصص جراحی پلاستیک، دانشگاه بریتیش کلمبیا، کانادا
۳۶- دکتر پروین محزونی	استاد، متخصص آسیب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۷- دکتر سید مهدی مدرس‌زاده	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۸- دکتر محمد مردانی	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۹- دکتر عطیه مغیثی	دانشیار، فوق تخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات دیابت و غدد داخلی مارینا، امریکا
۴۰- دکتر مرجان منصوریان	استادیار، دکترای تخصصی اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۱- دکتر محمدرضا نوربخش	استاد، متخصص فیزیوتراپی، دانشگاه جورجیای شمالی، آمریکا
۴۲- دکتر مصطفی هاشمی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
هفته نامه

راهنمای نگارش و ارسال مقاله علمی- پژوهشی

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

هیأت تحریریه پس از دریافت مقالات اقدام به بررسی مقاله از لحاظ ساختاری و موضوعی می‌نماید و چنانچه مقاله در بررسی اولیه مورد تأیید باشد، برای داوری ارسال می‌شود. زمان فرایند داوری (از دریافت تا پذیرش نهایی آن) ۳ ماه کاری (بجز روزهای پنج شنبه و تعطیلات رسمی) می‌باشد. *لازم به ذکر است داوری و انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است.* لذا پس از انجام مراحل داوری و پذیرش مقاله و قبل از صدور نامه پذیرش، لازم است نویسندگان محترم فرایند مالی را تکمیل نمایند.

نحوه ارسال دست نوشته‌ها در سامانه

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

توجه به نکات زیر در ارسال مقاله ضروری است:

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

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

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

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

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

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

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

- در مرحله دوم بعد از این که دست نوشته از نظر همراستایی و فرمت مجله مورد ارزیابی اولیه قرار گرفت و تائیدیه دفتر مجله در خصوص قابل ارجاع بودن آن دست نوشته برای شروع فرایند داوری ارسال گردید، ضروری است ۵۰ درصد کل هزینه به منظور شروع فرآیند داوری به عنوان (Processing fee) بر اساس موارد ذکر شده در بخش هزینه انتشار راهنمای نویسندگان پرداخت گردد. این هزینه غیر قابل برگشت می باشد. سپس فایل مربوط به تصویر اسکن شده فیش پرداختی فقط با نام نویسنده مسؤول از طریق سایت به دفتر مجله ارسال گردد. لازم به ذکر است تنظیم دست نوشته بر اساس فرمت مجله، و پرداخت وجه اولیه فقط جهت ارسال به داوران بوده و دال بر پذیرش آن نمی‌باشد.

نحوه ارایه مقاله

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

- ارسال مقاله فقط از طریق سایت پذیرفته می شود.

- زبان رسمی مجله، فارسی است و مقالات فقط به زبان فارسی همراه با چکیده انگلیسی قابل پذیرش هستند.

- دست نوشته‌های به زبان‌های غیر از فارسی و ترجمه شده در این مجله منتشر نمی‌شود.

- مقالات باید پژوهشی و حاصل تحقیق نویسنده یا نویسندگان در زمینه علوم پزشکی (پایه و بالینی) و رشته‌های مرتبط بوده که پیش از این به انگلیسی یا فارسی در سایر مجلات منتشر نشده باشد و یا به طور همزمان به مجلات دیگر نیز ارسال نگردیده باشد.

- این مجله مقالات شامل انواع اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را در منتشر می‌نماید.

- فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین نیز توسط این مجله انتشار می یابد.

- **مقالات قابل انتشار در مجله علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی اصفهان شامل موارد زیر می‌باشند.**

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

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

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

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

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

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

تبصره ۱ـ مقالات ترجمه پذیرفته نمی‌شود.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

تبصره۱– اگر شکل یا جدولی از مرجع دیگری اخذ شده است، شماره مرجع در آخر عنوان جدول یا شکل نوشته شود و مشخصات مأخذ در بخش مراجع درج شود.

–تقدیر و تشکر: در این بخش تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند مورد تقدیر قرار گیرند؛ از جمله کسانی که کمک‌های فنی، نوشتاری و مالی داده و همچنین سرپرستان و مدیران بخش‌های محل انجام مطالعه که در امر پشتیبانی‌های عمومی در اجرای تحقیق فعالیت داشته‌اند. همچنین ذکر نام سازمان(های) حمایت‌کننده یا تأمین‌کننده مالی پژوهش در این بخش ضروری است.

– در صورتی‌که دست نوشته حاصل از پایان‌نامه دانشجویی باشد حتما بایستی در قسمت تقدیر و تشکر شماره پایان‌نامه مصوب دانشگاه و نیز نام دانشگاه ذکر گردد.

– تبصره۱– ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

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

– اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

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

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

- منابع به صورت پایان‌نامه

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

- منابع به صورت الکترونیکی- مجله الکترونیکی روی اینترنت

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

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

منابع به صورت صفحه وب

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

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

- 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.

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

- 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.

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

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

- تداخل منافع (Conflict of Interest): نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، 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.

- هزینه انتشار:

دست‌نوشته در ابتدا از نظر هم‌راستایی با اهداف و تنظیم در چهارچوب مجله مورد ارزیابی اولیه قرار می‌گیرد. در صورت عدم انطباق بلافاصله به نویسنده مسؤول برگشت داده می‌شود.

- این مجله مطابق دستورالعمل ذیل نسبت به اخذ هزینه فرآیند بررسی و پذیرش اقدام می‌نماید.

- برآورد هزینه توسط کارشناسان دفتر مجله محاسبه و از طریق پست الکترونیک برای نویسنده مسئول ارسال می‌گردد.

- شروع فرآیند بررسی صرفاً منوط به پرداخت هزینه اولیه به میزان ۵۰ درصد کل هزینه برآورد شده و ثبت فیش پرداختی در سایت مجله خواهد بود.

نکته مهم: با توجه به این که وجوه واریز شده غیرقابل برگشت می‌باشد، لازم است صرفا پس از دریافت ایمیل هزینه بررسی از طرف دفتر مجله، نویسنده مسؤول نسبت به واریز وجه اقدام کند.

جدول نحوه محاسبه هزینه‌های دریافتی

نوع مقاله	تعداد کلمات مجاز شامل کلیه بخش‌های مقاله، رفرنس‌ها، شکل‌ها و نمودارها (هر شکل برابر ۳۰۰ کلمه محاسبه می‌شود)	هزینه دریافتی* (هزار تومان)	هزینه دریافتی به ازای هر ۵۰۰ کلمه اضافی (هزار تومان)
نامه به سردبیر	۴۰۰	–	–
گزارش مورد	۱۰۰۰	۲۵۰	۱۰۰
کوتاه	۱۰۰۰	۲۵۰	۱۰۰
پژوهشی اصیل	۲۵۰۰	۵۰۰	۱۰۰
پژوهشی اصیل (مطالعات کیفی)	۳۰۰۰	۵۰۰	۱۰۰
مروری	۷۰۰۰	۵۰۰	۱۰۰

برای محاسبه هزینه مقاله، تعداد کل کلمات مقاله (شامل عنوان‌بندی، چکیده فارسی و انگلیسی، متن اصلی، منابع و جداول) با هم جمع می‌گردد. ضمناً به ازای هر نمودار یا تصویر، تعداد ۳۰۰ کلمه به تعداد کلمات مقاله اضافه می‌گردد.

- نویسنده مسؤول باید بعد از دریافت ایمیل پرداخت هزینه از طرف دفتر مجله مبنی بر پرداخت ۵۰ درصد کل هزینه، مبلغ مورد نظر را به شماره حساب ۴۹۷۵۷۶۱۰۰۷ بانک ملت به نام دانشگاه علوم پزشکی اصفهان واریز نماید. برای پرداخت از سایر بانک ها از شماره شبا "۵۸۰۱۲۰۰۰۰۰۰۰۰۴۹۷۵۷۶۱۰۰۷" و شماره شناسه "۸۴۱۱۳۰۰۰۰۰۰۰۰۲" استفاده گردد. نام نویسنده مسؤول، شماره مقاله و نوع هزینه بایستی روی فیش واریزی نوشته شود و سپس اسکن فیش با کیفیت بالا و خوانا از طریق سایت، به دفتر مجله ارسال شود.

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

نکته مهم: لازم به ذکر است پرداخت وجه اولیه فقط برای شروع و انجام فرآیند بررسی می‌باشد و تعهدی برای پذیرش مقاله ایجاد نمی‌کند. ضمنا این هزینه غیر قابل بازگشت خواهد بود.

- در صورت پذیرش نهایی ۵۰ درصد هزینه باقیمانده به عنوان هزینه انتشار دریافت خواهد شد.

- درج شماره مقاله، نام نویسنده مسؤول و نوع هزینه (هزینه بررسی یا هزینه پذیرش) روی فیش الزامی است.

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.

- فرآیند مرور دقیق (Peer Review): تمام دست‌نوشته‌ها توسط داوران منتخب شورای نویسندگان مجله مورد بررسی دقیق قرار می‌گیرد. نویسنده مسؤول در کوتاه‌ترین زمان در جریان تصمیم سردبیر 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 نویسنده مسؤول ارسال می‌شود و مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت.

- هیأت تحریریه در رد، اصلاح، ویرایش و خلاصه کردن مقاله آزاد است.

- مسؤولیت صحت یا سقم مطالب ارایه شده در مقاله بر عهده‌ی نویسنده یا نویسندگان است.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

بررسی بیان miR-125b و ژن‌های ضد آپوپتوز MCL-1 و BCL-2 به دنبال تیمار با والپروئیک اسید در رده‌های سلولی سرطان پستان..... ۱۰۶۱

نسترن اینجیناری، زینب امینی فارسانی، حسین تیموری

ارزیابی تأثیر ویتامین C در پیش‌گیری از سمیت کلیوی ناشی از وانکومایسین: یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی.....۱۰۶۸

محمدرضا یزدانی، رسول سلطانی، فرزین خوروش، محسن گودرزی، شعله یعقوبی

بررسی تأثیر نشانگرهای تومور ER، Her2 و Ki67 بر روی بقای بلند مدت و کوتاه مدت زنان مبتلا به سرطان پستان با استفاده از مدل شفا یافته‌ی Bayesian.....۱۰۷۴

مرتضی محمدزاده، حسین فلاح‌زاده، نیما پهلوانی، فریبا بینش، ویدا پهلوانی

DOI: 10.22122/jims.v37i542.12349 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هفتم/شماره‌ی ۵۴۲/هفته‌ی دوم آبان ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۴ تاریخ چاپ: ۱۳۹۸/۸/۸

بررسی بیان miR-125b و ژن‌های ضد آپوپتوز MCL-1 و BCL-2 به دنبال تیمار با والپروئیک اسید در رده‌های سلولی سرطان پستان

نسترن اینجیناری[۱]، زینب امینی فارسانی[۲]، حسین تیموری[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: یکی از علل مرگ و میر ناشی از سرطان پستان، مقاومت دارویی و فعالیت ضد آپوپتوزی سلول‌های سرطانی است. عوامل اپی‌ژنتیک در هر دوی این فرایندها نقش دارند. Micro RNA (miRNA)ها عوامل اپی‌ژنتیک هستند که بیان نابه‌جای آن‌ها سرطان را شتاب می‌بخشند. والپروئیک اسید، یک داروی مهار کننده‌ی هیستون داستیلاز است که عملکرد ضد سرطانی دارد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر والپروئیک اسید بر بیان miR-125b به عنوان یکی از miRNAهای سرکوب کننده‌ی تومور در سرطان پستان و بیان ژن‌های ضد آپوپتوزی B-cell lymphoma 2 (BCL-2) و Myeloid cell leukemia-1 (MCL-1) به عنوان اهداف احتمالی miR-125b در رده‌های سلولی MDA-MB-231 و Michigan Cancer Foundation-7 (MCF-7) بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ابتدا رده‌های سلولی MDA-MB-231 و MCF-7 در شرایط بهینه کشت داده شدند. زیستایی سلول‌ها در غلظت‌های متفاوت والپروئیک اسید و زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت با روش MTT اندازه‌گیری شد. بیان miR-125b و ژن‌های BCL-2 و MCL-1 با روش Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از آزمون One-way ANOVA واکاوی شدند.

یافته‌ها: والپروئیک اسید با افزایش دز و زمان، به طور معنی‌داری منجر به کاهش زیست‌پذیری هر دو رده‌ی سلولی می‌شود. همچنین، والپروئیک اسید منجر به افزایش معنی‌دار miR-125b در هر دو رده‌ی سلولی می‌گردد ($P < ۰/۰۱۰$). در سلول‌های MCF-7، این دارو منجر به کاهش معنی‌دار ژن‌های BCL-2 و MCL-1 می‌شود ($P < ۰/۰۰۱$)، اما تفاوت در بیان این دو ژن در سلول‌های تیمار شده‌ی MDA-MB-231 نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵۰$).

نتیجه‌گیری: احتمال می‌رود والپروئیک اسید از طریق مداخله در فرایندهای اپی‌ژنتیکی و با تأثیر بر بیان ژن‌های BCL-2 و MCL-1 می‌تواند به عنوان گزینه‌ی مناسب در تحقیقات سرطان پیشنهاد شود.

واژگان کلیدی: آپوپتوز، سرطان پستان، Micro RNA، والپروئیک اسید

ارجاع: اینجیناری نسترن، امینی فارسانی زینب، تیموری حسین. **بررسی بیان miR-125b و ژن‌های ضد آپوپتوز MCL-1 و BCL-2 به دنبال تیمار با والپروئیک اسید در رده‌های سلولی سرطان پستان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۴۲): ۱۰۶۷-۱۰۶۱

مقدمه

سرطان پستان، به عنوان دومین عامل مرگ ناشی از سرطان (۱) به داروهای شیمیایی مقاومت نشان می‌دهد (۲). مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی نظیر تغییرات هیستون‌ها و RNAهای غیر کد کننده، در مقاومت دارویی مؤثر هستند (۳). آنزیم های هیستون داستیلاز، با حذف گروه استیل از هیستون‌ها، منجر به خاموشی ژن می‌شوند که افزایش بیان این آنزیم‌ها، باعث خاموشی ژن‌های سرکوب کننده‌ی تومور می‌شود (۴).

Micro RNA (miRNA)ها، گروهی از RNAهای غیر کد کننده هستند که از طریق انتهای '۵ خود با '۳ غیر قابل ترجمه‌ی Messenger RNA (mRNA) (UTR-3') هدف، پیوند هیدروژنی برقرار می‌نمایند و از این طریق، بیان ژن‌ها را پس از رونویسی به صورت کاهنده تنظیم می‌کنند (۵). امروزه، ثابت شده است که بیان تنظیم نشده‌ی برخی از miRNAها با دخالت در تکثیر سلول‌ها، رگ‌زایی، متاستاز و آپوپتوز در انواع مختلف سرطان، بسته به عملکرد

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی شهرکرد، پژوهشگاه پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی شهرکرد، پژوهشگاه پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: حسین تیموری

Email: hteimori@skums.ac.ir

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ژن هدف آن‌ها، به عنوان سرکوب کننده‌ی تومور یا آنکومیر عمل می‌کنند (۶). همچون بسیاری از miRNAهای دخیل در سرطان‌ها، miR-125b نیز در این رابطه به صورت دوگانه عمل می‌کند. miR-125b در تعدادی از سرطان‌ها مانند سرطان پروستات و پانکراس، به عنوان آنکومیر و در تعدادی از سرطان‌ها نظیر سرطان پستان، تخمدان و ملانوما، به عنوان سرکوبگر تومور عمل می‌کند و با هدف قرار دادن ژن‌های دخیل در مسیر آپوپتوز، باعث تحریک آپوپتوز و مهار تکثیر سلولی در این دسته از تومورها می‌شود (۷).

بر هم خوردن تعادل میان پروتئین‌های اعضای خانواده‌ی B-cell lymphoma 2 (BCL-2)، نقش اساسی در شروع و پیشرفت سرطان دارد (۸). مطالعات نشان داده‌اند BCL-2 و Myeloid cell leukemia-1 (MCL-1) که دو عضو از ژن‌های ضد آپوپتوزی خانواده‌ی BCL-2 هستند، در سرطان پستان افزایش بیان پیدا می‌کنند. افزایش بیان این دو ژن با پیش‌آگهی ضعیف بیماران مبتلا به سرطان پستان مرتبط است (۱۱-۹). به همین دلیل، امروزه توجه دانشمندان به استفاده از داروهایی جلب شده است که منجر به مهار بیان ژن‌های ضد آپوپتوزی اعضای خانواده‌ی BCL-2 می‌شوند.

یکی از رویکردهای شناسایی داروهای مؤثر در درمان سرطان‌ها، استفاده از داروهای ساخته شده‌ای است که در گذشته برای درمان بیماری‌هایی غیر از سرطان، تأیید شده‌اند و مورد استفاده قرار می‌گیرند. از جمله‌ی این داروها، می‌توان به داروی والپروئیک اسید ($(CH_3CH_2CH_2)_2CHCO_2H$) (VPA) اشاره کرد. والپروئیک اسید نوعی اسید چرب با زنجیره‌ی کوتاه است که برای بهبود صرع، بیماری‌های دو قطبی، میگرن و اسکیزوفرنی استفاده می‌شود (۱۲). امروزه، مشخص شده است که والپروئیک اسید، می‌تواند به عنوان یک مهار کننده‌ی هیستون داستیلازها با بسیاری از فرایندهای سلول‌های سرطانی همچون تکثیر سلول، فرار از آپوپتوز و مهاجرت سلول‌ها مداخله کند (۱۴-۱۳).

از آن جایی‌که داروهای مهاجم نسبت به مکانیسم‌های ژنتیکی، بسیار مؤثر و در حال عمومی شدن هستند، هدف از انجام این مطالعه، ابتدا بررسی درصد زیستایی والپروئیک اسید در سلول‌های MCF-7 و MDA-MB-231 در نظر گرفته شد. پس از آن، بیان miR-125b و ژن‌های احتمالی هدف این miRNA یعنی MCL-1 و BCL-2 در رده‌های سلولی پیش‌گفته بررسی شد.

روش‌ها

کشت سلول: در این مطالعه‌ی تجربی، ابتدا رده‌های سلولی MDA-MB-231 و MCF-7 از انستیتو پاستور ایران خریداری شد و در محیط کشت Roswell Park Memorial Institute-1640 (RPMI-1640) حاوی ۱۰ درصد Fetal bovin serum (FBS)، ۱ درصد آنتی‌بیوتیک Penicillin، ۱۰۰ واحد/میلی‌لیتر Streptomycin و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با دی‌اکسید کربن (CO_2) ۵ درصد کشت داده شدند.

بررسی درصد زیستایی سلول‌ها: اثرات مهاری والپروئیک اسید (شماره کاتالوگ V0033000، Sigma Aldrich) بر رشد و تکثیر سلول‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمایش 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) مورد بررسی قرار گرفت. به منظور انجام این آزمایش، سلول‌های MCF-7 و MDA-MB-231 به ترتیب به تعداد ۵۰۰۰ و ۴۰۰۰ سلول در پلیت‌های ۹۶ خانه کاشته شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، سلول‌ها به صورت جداگانه با غلظت‌های ۲۸-۲ میلی‌مولار والپروئیک اسید تیمار شدند. برای هر غلظت، سه چاهک در نظر گرفته شد و سه چاهک نیز به عنوان شاهد بدون دارو مورد ارزیابی قرار گرفتند. پلیت‌ها به مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور انکوبه شدند. سپس، به هر چاهک از پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از RPMI-1640 بدون رنگ Phenol red به همراه ۱۰ میکرومولار از محلول MMT (۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) اضافه شد و پلیت‌های حاوی سلول، به مدت ۴ ساعت در شرایط تاریکی در انکوباتور قرار گرفتند. محیط کشت هر چاهک به‌آرامی خارج و جهت حل شدن بلورهای فورمازان ۱۵۰ میکرولیتر، Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Merck, Germany) به هر چاهک از پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه با شتاب ۱۵۰ دور در دقیقه Shake شد. میزان جذب نوری (Optical density یا OD) در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA reader) (Bio-Rad) اندازه‌گیری شد. درصد بقای سلول‌ها برای هر یک از غلظت‌های والپروئیک اسید به منظور به دست آوردن میانگین غلظتی از دارو که ۳۰ درصد از رشد سلول‌ها را مهار می‌کند (IC30 یا ma30% ximal inhibitory concentration)، با استفاده از معادله‌ی زیر محاسبه شد:

درصد زیستایی = میزان جذب نوری تیمار/میزان جذب نوری کنترل × ۱۰۰

Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR):

پس از تیمار سلول‌های مورد مطالعه با غلظت ۱۰ میلی‌مولار از والپروئیک اسید به مدت ۴۸ ساعت، استخراج RNA تام به‌صورت جداگانه برای هر کدام از گروه سلول‌ها به کمک محلول RNX-Plus (سیناکلون، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت انجام شد. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده به ترتیب روی ژل آگارز ۱ درصد و

دستگاه نانودراپ بررسی شد. سپس، نمونه‌های RNA در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. سنتز complementary DNA (cDNA) به طور جداگانه برای بررسی بیان ژن‌ها و miRNA مورد نظر به ترتیب با استفاده از کیت‌های یکتاتجهیز (شماره‌ی کاتالوگ: YT4500) و بن‌یاخته (شماره‌ی کاتالوگ: BON209001) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. ساخت cDNA برای ژن‌های مورد نظر در برنامه‌ی حرارتی ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و برای miRNA مورد نظر در برنامه‌ی حرارتی ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام شد. Real-time PCR برای ژن‌ها و miRNA مورد مطالعه به ترتیب با استفاده از کیت یکتاتجهیز و بن‌یاخته طبق شیوه‌نامه‌ی آن انجام شد. برنامه‌ی حرارتی برای ژن‌ها در ۴ مرحله شامل مرحله‌ی فعال‌سازی اولیه (Hold) به مدت ۱۲۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، مرحله‌ی واسرشتگی به مدت ۲۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، مرحله‌ی اتصال پرایمرها به مدت ۲۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و مرحله‌ی طویل‌سازی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد تنظیم شد و تعداد کل چرخه‌ها ۴۰ چرخه در نظر گرفته شد.

برای miRNA مورد مطالعه، چرخه‌های دمایی شامل یک چرخه‌ی فعال‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ ثانیه و به دنبال آن ۴۰ چرخه شامل مرحله‌ی دناتوراسیون به مدت ۵ ثانیه در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و مرحله‌ی ترکیبی اتصال پرایمر و پلیمریزاسیون به مدت ۲۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود.

بررسی منحنی ذوب برای تأیید این که «آیا همه‌ی محصولات پرایمرها دارای یک آمپلیکون در فرایند PCR هستند؟»، استفاده شد. نتایج به دست‌آمده با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ مورد واکاوی قرار گرفتند. در این آزمایش، Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) و Small nucleolar RNAs C/D box (SNORD) به ترتیب به عنوان شاهد داخلی ژن‌ها و miRNA مورد مطالعه در نظر گرفته شدند. توالی پرایمرهای GAPDH، BCL-2 و MCL-1 به ترتیب با استناد به مقالات معتبر انتخاب شدند (۱۸-۱۶). پس از basic local alignment search tool (BLAST) (Primer blast) توالی پرایمرها در پایگاه داده‌ی National Center for Biotechnology Information (NCBI) و اطمینان از صحت تکثیر قطعه‌ی مورد نظر، مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین، برای بررسی میزان بیان miRNAهای هدف، از پرایمرهای شرکت بن‌یاخته استفاده شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در آزمایش در جدول ۱ آمده است.

واکاوی آماری: تمامی آزمایش ها سه بار تکرار شدند و آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری GraphPad Prism 5.01 انجام شد (GraphPad, USA). نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار ارایه شدند. اطلاعات به دست آمده از Real-time PCR با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ در نرم‌افزار Excel نسخه‌ی ۲۰۱۶ واکاوی شدند. اطلاعات بیان ژن حاصل از Real-time PCR با استفاده از آزمون One-way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

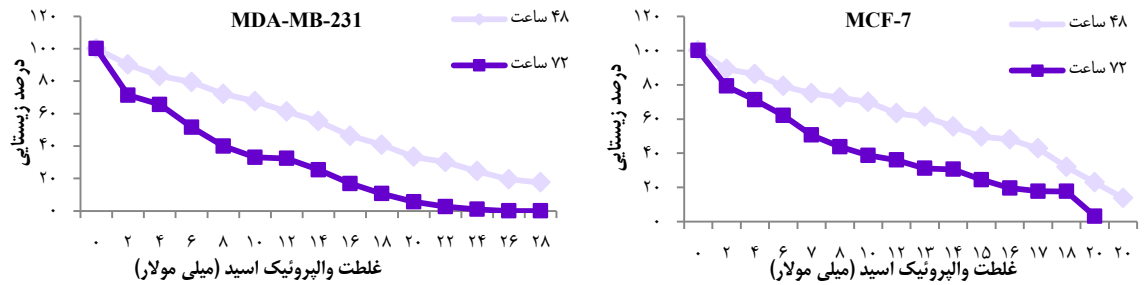
کشت سلول و MTT: نتایج آزمایش MTT نشان داد که والپروئیک اسید درصد زیستایی را در هر دو رده‌ی سلولی متناسب با افزایش غلظت و زمان کاهش می‌دهد. میانگین IC30 برای هر دو رده‌ی سلولی، ۱۰ میلی‌مولار به دست آمد ($P < ۰/۰۵۰$) (شکل ۱).

Real-time PCR: بررسی اثر داروی والپروئیک اسید بر بیان miR-125b در سلول‌های هدف نشان داد VPA به صورت معنی‌داری منجر به افزایش بیان ۱۱/۳۵ برابری و ۷/۵۲ برابری miR-125b به ترتیب در سلول‌های MCF-7 و MDA-MB-231 نسبت به گروه شاهد شده است ($P < ۰/۰۵۰$) (شکل ۲).

جدول ۱. توالی پرایمرهای طراحی شده برای واکنش

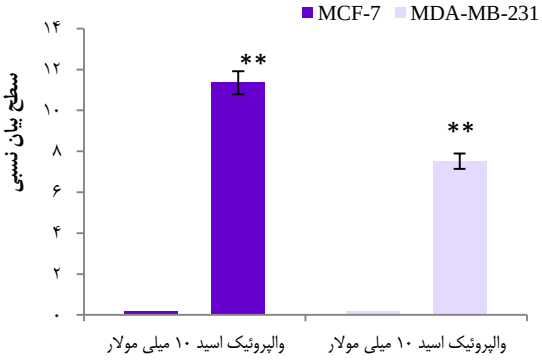
(Real-time PCR) Real-time polymerase chain reaction

عنوان پرایمر	توالی	مدت زمان (ثانیه)
GAPDH Forward	5 ACGGATTTGGTCGTATTGGG 3	۶۰
GAPDH Reverse	5 TGATTTTGGAGGGATCTCGC 3	۶۰
BCL-2 Forward	5 GCTCTAAAATCCATCCAG 3	۶۰
BCL-2 Reverse	5 CCTCTCCATCATCAACTT 3	۶۰
MCL-1 Forward	5 GGGCAGGATTGTGACTCTCATT 3	۶۰
MCL-1 Reverse	5 GATGCAGCTTTCTTGGTTTATGG 3	۶۰



شکل ۱. درصد زیستایی در سلول‌های Michigan Cancer Foundation-7 (MCF-7) و MDA-MB-231

نتایج MTT نشان داد که والپروئیک اسید، سبب کاهش زیست‌پذیری سلول‌ها در حالت وابسته به غلظت و زمان می‌شود.

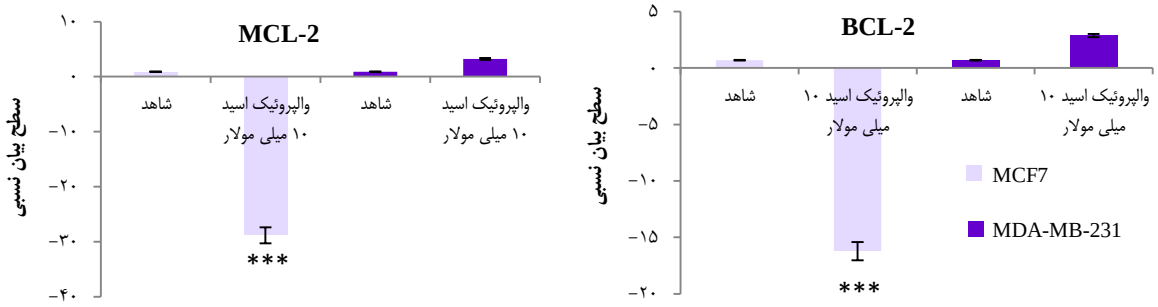


شکل ۲. تأثیر والپروئیک اسید بر بیان miR-125b در رده‌های سلولی Michigan Cancer Foundation-7 (MCF-7) و MDA-MB-231: تیمار سلول‌های مورد مطالعه با غلظت ۱۰ میلی‌مولار از داروی والپروئیک اسید به مدت ۴۸ ساعت، منجر به افزایش بیان miR-125b در هر دو رده‌ی سلولی شده است. Small nucleolar RNAs C/D box (SNORD) به عنوان شاهد داخلی در نظر گرفته شده است. همچنین، مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار آمده است و علامت * نشان دهنده‌ی معنی‌دار بودن تفاوت در گروه مورد نسبت به گروه شاهد است (P < ۰/۰۱۰).**

همچنین، بررسی اثر والپروئیک اسید بر سطح بیان دو مورد از مهم‌ترین ژن‌های هدف احتمالی miRNA مورد مطالعه در مسیر آپوپتوز نشان داد، والپروئیک اسید منجر به کاهش ۱۶/۲۲ برابری و ۲۸/۸۴ برابری بیان ژن‌های BCL-2 و MCL-1 نسبت به گروه شاهد در سلول‌های MCF-7 شد. در سلول‌های MDA-MB-231، والپروئیک اسید منجر به افزایش بیان ژن‌های BCL-2 و MCL-1 به ترتیب به میزان ۲/۸۷ برابر و ۳/۲۳ برابر نسبت به گروه شاهد گردید، اما این افزایش از نظر آماری برای هیچ کدام از ژن‌ها معنی‌دار نبود (شکل ۳).

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، به بررسی تأثیر والپروئیک اسید بر بیان miR-125b، BCL-2 و MCL-1 در رده‌های سلولی سرطان پستان انسانی MDA-MB-231 و MCF-7 پرداخته شد. با توجه به هتروژن بودن بالای سرطان پستان، یافتن مکانیسم‌های مولکولی تأثیرگذاری دارو در رده‌های سلولی متفاوت سرطان پستان می‌تواند در آینده، مطالعات In vitro را تسریع کند و در مطالعات In vivo، به گسترش پزشکی شخصی کمک کند.



شکل ۳. تأثیر والپروئیک اسید بر بیان B-cell lymphoma 2 (BCL-2) و Myeloid cell leukemia-1 (MCL-1) در رده‌های سلولی Michigan Cancer Foundation-7 (MCF-7) و MDA-MB-231: تیمار سلول‌ها با غلظت ۱۰ میلی‌مولار از داروی والپروئیک اسید به مدت ۴۸ ساعت منجر به کاهش بیان ژن‌های ضد آپوپتوز BCL-2 و MCL-1 در سلول‌های MCF-7 شده است. میزان بیان این ژن‌های ضد آپوپتوزی در سلول‌های MDA-MB-231 تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نشان نداد. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) به عنوان شاهد داخلی در نظر گرفته شد و مقادیر با استفاده از آزمون One-way ANOVA واکاوی شدند. علامت * نشان دهنده‌ی معنی‌دار بودن تفاوت گروه مورد نسبت به گروه شاهد است (P* < ۰/۰۰۱).**

تاکنون گزارش‌های متعددی نشان دادند که والپروئیک اسید منجر به القای آپوپتوز در انواع مختلفی از سلول‌های سرطانی می‌شود (۱۹-۱۸، ۱۴)، اما مکانیسم‌های مولکولی والپروئیک اسید که منجر به مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود، هنوز به طور واضح مشخص نیست.

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد والپروئیک اسید منجر به کاهش زیست‌پذیری هر دو رده‌ی سلولی با افزایش غلظت و زمان می‌شود. همچنین، این دارو، باعث افزایش معنی‌دار miR-125b در هر دو رده‌ی سلولی نسبت به گروه شاهد و کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های ضد آپوپتوز BCL-2 و MCL-1 نسبت به گروه شاهد در سلول‌های MCF-7 می‌شود، اما تفاوت معنی‌داری بین بیان ژن‌های BCL-2 و MCL-1 در سلول‌های MDA-MB-231 نسبت به گروه شاهد وجود نداشت.

در مطالعه‌ی Willimott و Wagner، مشخص شد که miR-125b با هدف قرار دادن '۳ غیر قابل ترجمه‌ی mRNA مربوط به BCL-2 منجر به آپوپتوز سلول‌های سرطانی MEC1 می‌شود (۲۰). Lin و همکاران گزارش کردند، بیان miR-125b در سلول‌های سرطانی پانکراس که با داروی والپروئیک اسید تیمار شده بودند، افزایش می‌یابد (۲۱). مطالعه‌ی حاضر نشان داد والپروئیک اسید، باعث افزایش معنی‌دار بیان miR-125b در رده‌های سلولی MDA-MB-231 و MCF-7 در مقایسه با گروه شاهد می‌شود.

انتظار می‌رود که استفاده از داروهایی به منظور برگرداندن تعادل میان اعضای خانواده‌ی BCL-2 که منجر به القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌شوند، مانند مکانیسم‌هایی که منجر به تغییر بیان ژن یا تغییر فعالیت پروتئین‌ها می‌شوند، در آینده‌ای نه چندان دور در بالین استفاده شود. BCL-2 و MCL-1، دو ژن ضد آپوپتوزی هستند که در سرطان پستان افزایش بیان دارند و با خطر عود مجدد و مقاومت به داروهای شیمی‌درمانی مرتبط هستند. در ۷۰ درصد از سرطان‌های پستان، BCL-2 افزایش بیان دارد؛ به طوری‌که افزایش بیان BCL-2 مؤلفه‌ای از آزمایش انکوتایپ DX است که برای پیش‌بینی خطر عود مجدد در بیماران Estrogen receptor-positive (ER+) استفاده می‌شود (۲۲، ۱۱).

همچنین، Young و همکاران گزارش کردند که در ۳۰ درصد از موارد سرطان پستان تکثیر ژن MCL-1 اتفاق می‌افتد (۲۳). Gilardini Montani و همکاران دریافتند والپروئیک اسید منجر به کاهش سطح پروتئین MCL-1 در سلول‌های Panc1 و PaCa44 مربوط به سرطان پانکراس می‌شود (۲۴). نتایج مطالعه‌ی حاضر در سطح بیان ژن نشان داد والپروئیک اسید منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های ضد آپوپتوز BCL-2 و MCL-1 در سلول‌های MCF-7 نسبت به گروه شاهد می‌شود، اما تفاوت معنی‌داری در بیان این دو ژن در سلول‌های MDA-MB-231 نسبت به گروه شاهد وجود نداشت.

تأثیر یک داروی واحد بسته به نوع سلول‌های سرطانی می‌تواند متفاوت باشد (۲۵). نتایج این مطالعه نشان داد والپروئیک اسید منجر به تغییر بیان ژن‌های ضد آپوپتوزی پیش‌گفته در رده‌های سلولی MCF-7 و MDA-MB-231 می‌شود. با توجه به این که رده‌ی سلولی MCF-7 جزء لومینال A (+ER، +PR و -HER2) و رده‌ی سلولی MDA-MB-231، جزء رده‌ی سلولی سه‌گانه‌ی منفی (-ER، -PR و -HER2) است، در نتیجه، حساسیت این دو رده‌ی سلولی به داروهای مختلف نظیر والپروئیک اسید متفاوت است. بنابراین، حتی در یک نوع خاص سرطان، شناسایی بهترین دارو برای هر بیمار سرطانی به یک راهبرد شخصی شده‌ی کارآمد نیاز داردکه این مطلب، اهمیت پیش‌بینی ژنومی هر فرد مبتلا به سرطان و پزشکی شخصی را برجسته می‌کند (۲۶-۲۵).

امروزه، مطالعات زیادی به بررسی ویژگی‌های ضد سرطانی والپروئیک اسید پرداخته‌اند، اما نتایج تعدادی از این مطالعات با یکدیگر ضد و نقیض می‌باشند. از نتایج مطالعه‌ی حاضر چنین استنباط می‌شود که احتمال دارد والپروئیک اسید از طریق تأثیر بر بیان ژن‌های اعضای خانواده‌ی BCL-2 و از طریق مداخله در فرایندهای اپی‌ژنتیک، می‌تواند به عنوان گزینه‌ی مناسب در تحقیقات سرطان پیشنهاد شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی مصوب در مرکز تحقیقاتی سلولی و مولکولی شهرکرد به شماره‌ی ۲۹۰۴ و با کد اخلاق IR.SKUMS.REC.1397.234 می‌باشد. از معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به خاطر حمایت مالی این طرح، تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Pasculli B, Barbano R, Parrella P. Epigenetics of breast cancer: Biology and clinical implication in the era of precision medicine. Semin Cancer Biol 2018; 51: 22-35.
2. Zhou X, Li Z, Wang X, Jiang G, Shan C, Liu S. Metabolomics reveals the effect of valproic acid on MCF-7 and MDA-MB-231 cells. Xenobiotica 2019; 1-9. . [Epub ahead of print].
3. Peschansky VJ, Wahlestedt C. Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation. Epigenetics 2014; 9(1): 3-12.
4. Minucci S, Pelicci PG. Histone deacetylase inhibitors

and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer. Nat Rev Cancer 2006; 6(1): 38-51.
5. Ruan K, Fang X, Ouyang G. MicroRNAs: Novel regulators in the hallmarks of human cancer. Cancer Lett 2009; 285(2): 116-26.
6. Stahlhut Espinosa CE, Slack FJ. The role of microRNAs in cancer. Yale J Biol Med 2006; 79(3-4): 131-40.
7. Sun YM, Lin KY, Chen YQ. Diverse functions of miR-125 family in different cell contexts. J Hematol Oncol 2013; 6: 6.
8. Gerl R, Vaux DL. Apoptosis in the development and treatment of cancer. Carcinogenesis 2005; 26(2): 263-70.
9. Campbell KJ, Dhayade S, Ferrari N, Sims AH, Johnson E, Mason SM, et al. MCL-1 is a prognostic indicator and drug target in breast cancer. Cell Death Dis 2018; 9(2): 19.
10. Hird AW, Tron AE. Recent advances in the development of Mcl-1 inhibitors for cancer therapy. Pharmacol Ther 2019; 198: 59-67.
11. Zarella MD, Heintzelman RC, Popnikolov NK, Garcia FU. BCL-2 expression aids in the immunohistochemical prediction of the Oncotype DX breast cancer recurrence score. BMC Clin Pathol 2018; 18: 14.
12. Sajadpoor Z, Amini-Farsani Z, Teimori H, Shamsara M, Sangtarash MH, Ghasemi-Dehkordi P, et al. Valproic acid promotes apoptosis and cisplatin sensitivity through downregulation of H19 noncoding RNA in ovarian A2780 cells. Appl Biochem Biotechnol 2018; 185(4): 1132-44.
13. Terranova-Barberio M, Roca MS, Zotti AI, Leone A, Bruzzese F, Vitagliano C, et al. Valproic acid potentiates the anticancer activity of capecitabine in vitro and in vivo in breast cancer models via induction of thymidine phosphorylase expression. Oncotarget 2016; 7(7): 7715-31.
14. Aztopal N, Erkisa M, Erturk E, Ulukaya E, Tokullugil AH, Ari F. Valproic acid, a histone deacetylase inhibitor, induces apoptosis in breast cancer stem cells. Chem Biol Interact 2018; 280: 51-8.
15. Paik WH, Ryu JK, Jeong KS, Park JM, Song BJ, Lee SH, et al. Clobenpropit enhances anti-tumor effect of gemcitabine in pancreatic cancer. World J Gastroenterol 2014; 20(26): 8545-57.
16. Nohara K, Yokoyama Y, Kano K. The important role of caspase-10 in sodium butyrate-induced apoptosis. Kobe J Med Sci 2007; 53(5): 265-73.
17. Kawakami H, Huang S, Pal K, Dutta SK, Mukhopadhyay D, Sinicrope FA. Mutant BRAF Upregulates MCL-1 to confer apoptosis resistance that is reversed by MCL-1 antagonism and cobimetinib in colorectal cancer. Mol Cancer Ther 2016; 15(12): 3015-27.
18. Yarmohamadi A, Asadi J, Gharaei R, Mirzadeh M, Khoshnazar A. Valproic acid, a histone deacetylase inhibitor, enhances radiosensitivity in breast cancer cell line. Journal of Radiation and Cancer Research 2018; 9: 86.
19. Kawagoe R, Kawagoe H, Sano K. Valproic acid induces apoptosis in human leukemia cells by stimulating both caspase-dependent and -independent apoptotic signaling pathways. Leuk Res 2002; 26(5): 495-502.
20. Willimott S, Wagner SD. miR-125b and miR-155 contribute to BCL2 repression and proliferation in response to CD40 ligand (CD154) in human leukemic B-cells. J Biol Chem 2012; 287(4): 2608-17.
21. Lin T, Ren Q, Zuo W, Jia R, Xie L, Lin R, et al. Valproic acid exhibits anti-tumor activity selectively against EGFR/ErbB2/ErbB3-coexpressing pancreatic cancer via induction of ErbB family members-targeting microRNAs. J Exp Clin Cancer Res 2019; 38(1): 150.
22. Campbell KJ, Tait SWG. Targeting BCL-2 regulated apoptosis in cancer. Open Biol 2018; 8(5).
23. Young AI, Law AM, Castillo L, Chong S, Cullen HD, Koehler M, et al. MCL-1 inhibition provides a new way to suppress breast cancer metastasis and increase sensitivity to dasatinib. Breast Cancer Res 2016; 18(1): 125.
24. Gilardini Montani MS, Granato M, Santoni C, Del PP, Merendino N, D'Orazi G, et al. Histone deacetylase inhibitors VPA and TSA induce apoptosis and autophagy in pancreatic cancer cells. Cell Oncol (Dordr) 2017; 40(2): 167-80.
25. Cohen AL, Soldi R, Zhang H, Gustafson AM, Wilcox R, Welm BE, et al. A pharmacogenomic method for individualized prediction of drug sensitivity. Mol Syst Biol 2011; 7: 513.
26. Holliday DL, Speirs V. Choosing the right cell line for breast cancer research. Breast Cancer Res 2011; 13(4): 215.

DOI: 10.22122/jims.v37i542.12349 Published by Vesnu Publications

Journal of Isfahan Medical School Vol. 37, No. 542, 2nd Week, November 2019

Received: 23.05.2019 Accepted: 26.09.2019 Published: 30.10.2019

Expression of miR-125 and MCL-1 and BCL-2 Anti-apoptotic Genes under the Influence of Valproic Acid Treatment in Breast Cancer Cell Lines

Nastaran Injinari[1], Zeinab Amini-Farsani[2], Hossein Teimori[3]

Original Article

Abstract

Background: One of the causes of death through breast cancer is drug resistance and the anti-apoptotic activity of cancer cells. Epigenetic factors are involved in both of these processes. Micro RNAs (miRNAs) are epigenetic agents that accelerate the inappropriate expression of cancer. Valproic acid is a histone deacetylase inhibitor that has anticancer activity. The aim of this study was to evaluate the effect of valproic acid on miR-125b expression as one of the tumor suppressor miRNAs in breast cancer, and the expression of BCL-2 and MCL-1 anti-apoptotic genes as possible targets of miR-125b in MDA-MB-231 and MCF-7 cell lines.

Methods: In this experimental study, MDA-MB-231 and MCF-7 cell lines were first cultured in optimal conditions. Cell viability was measured at different concentrations of valproic acid at 48 and 72 hours using MTT assay. The expression of miR-125b and BCL-2 and MCL-1 genes was analyzed using real-time polymerase chain reaction (PCR). The data were analyzed using one-way ANOVA test.

Findings: Valproic acid significantly decreased the viability of both cell lines in dose- and time-dependent manner. It also led to a significant increase in miR-125b in both cell lines ($P < 0.010$). In MCF-7 cells, this drug led to a significant decrease in BCL-2 and MCL-1 genes ($P < 0.001$). But the difference in these two genes in MDA-MB-231 treated cells was not significant compared to the control group ($P > 0.050$).

Conclusion: Valproic acid may be suggested as a profitable option in cancer research, through its involvement in epigenetic processes, and its influence on the expression of BCL-2 and MCL-1 genes.

Keywords: Apoptosis, Breast cancer, miRNA, Valproic acid

Citation: Injinari N, Amini-Farsani Z, Teimori H. **Expression of miR-125 and MCL-1 and BCL-2 Anti-Apoptotic Genes under the Influence of Valproic Acid Treatment in Breast Cancer Cell Lines.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(542): 1061-7.

1- MSc Student, Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2- PhD in Molecular Genetics, Young Researchers and Elites Club, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
3- Associate Professor, Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
Corresponding Author: Hossein Teimori, Email: hteimori@skums.ac.ir

DOI: 10.22122/jims.v37i542.12184 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هفتم/شماره‌ی ۵۴۲/هفته‌ی دوم آبان ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۴ تاریخ چاپ: ۱۳۹۸/۸/۸

ارزیابی تأثیر ویتامین C در پیش‌گیری از سمیت کلیوی ناشی از وانکومایسین: یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی

محمدرضا یزدانی[۱]، رسول سلطانی[۲]، فرزین خوروش[۳]، محسن گودرزی[۴]، شعله یعقوبی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مسمومیت ناشی از مصرف وانکومایسین یک عارضه‌ی شایع در بیماران تحت درمان با این دارو می‌باشد، اما تا کنون نظریه‌ی واحدی در خصوص پیش‌گیری از آن ارایه نشده است. این مطالعه، با هدف تعیین تأثیر مصرف ویتامین C در پیش‌گیری از مسمومیت کلیوی ناشی از مصرف وانکومایسن انجام گرفت.

روش‌ها: در یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی، ۹۶ بیمار تحت درمان با وانکومایسین در دو گروه ۴۸ نفره توزیع شدند. در گروه مورد، ۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین C خوراکی دو بار در روز به مدت ۱۰ روز تجویز شد و در گروه شاهد، مداخله‌ای انجام نشد. بیماران دو گروه در بدو شروع درمان و در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ از نظر سطح سرمی کراتینین، کلیرانس کراتینین و بروز مسمومیت کلیوی مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج دو گروه مقایسه گردید.

یافته‌ها: موارد بروز مسمومیت کلیوی در گروه مورد ۳ نفر (۶/۲۵ درصد) و در گروه شاهد ۶ نفر (۱۲/۰ درصد) بود و بین دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P = ۰/۳۲۰). در عین حال، خطر نسبی بروز مسمومیت کلیوی در گروه شاهد ۴/۱ برابر گروه دریافت کننده‌ی ویتامین C بود (P = ۰/۰۳۴، Confidence interval = ۱/۱۲–۱۵/۴ یا CI ۹۵ درصد، ۴/۱ = Relative risk یا RR).

نتیجه‌گیری: مصرف ویتامین C باعث کاهش خطر بروز مسمومیت کلیوی ناشی از مصرف وانکومایسین می‌گردد و با توجه به مفید بودن این ویتامین در پیش‌گیری از مسمومیت‌های ناشی از استرس اکسیداتیو، مصرف آن پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: ویتامین C، وانکومایسین، مسمومیت کلیوی

ارجاع: یزدانی محمدرضا، سلطانی رسول، خوروش فرزین، گودرزی محسن، یعقوبی شعله. **ارزیابی تأثیر ویتامین C در پیش‌گیری از سمیت کلیوی ناشی از وانکومایسین: یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۴۲): ۱۰۷۳–۱۰۶۸

مقدمه

سمیت کلیوی مربوط به درمان با وانکومایسین در ۲۵–۵ درصد بیماران و نیز در ۳۵ درصد بیمارانی که هم‌زمان آمینوگلیکوزید دریافت می‌کنند، گزارش شده است (۲–۱). دستورالعمل‌های درمانی جدید پیشنهاد کرده‌اند که دزهای بالاتر وانکومایسین (برای ایجاد سطح تراف ۲۰–۱۵ میلی‌گرم/لیتر) برای درمان عفونت‌های پیچیده‌ی Staphylococcus aureus مقاوم به متی‌سیلین (MRSA یا Methicillin-resistant Staphylococcus aureus) نظیر اندوکاردیت، استئومیلیت، منتژیت، باکتریمی و پنومونی بیمارستانی تجویز شود (۳). این سطح از وانکومایسین، با خطر بیشتری برای بروز آسیب کلیوی همراه است. از طرفی، طول درمان با وانکومایسین نیز دارای اهمیت است و بیمارانی که این دارو را بیش از ۷ روز دریافت می‌کنند، بیشتر دچار سمیت کلیوی می‌شوند (۴). جهت پایش عملکرد کلیه‌ها در طی درمان با وانکومایسین، اندازه‌گیری سطح سرمی نیتروژن اوره‌ی خون (BUN یا Blood urea nitrogen) و کراتینین با دفعات حداقل ۲ بار در هفته ضروری است (۵).

ویتامین C یا اسکوربیک اسید، یک آنتی‌اکسیدان است. این ویتامین، همچنین باعث ساخت کلاژن می‌شود و در پیش‌گیری از بالا

۱- استادیار، گروه بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۳- استاد، گروه بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دستیار، گروه بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: محسن گودرزی

Email: gudarz77@yahoo.com

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

رفتن کلسترول خون و ایجاد لخته های خونی در رگ مؤثر است. احتمال بروز سکته‌ی مغزی در افراد غیر مصرف کننده‌ی سیگار را تا ۳۰ درصد و در افراد مصرف کننده‌ی سیگار را تا ۷۰ درصد کاهش می‌دهد. به اعتقاد محققان، احتمال می رود آنتی‌اکسیدان هایی نظیر ویتامین C، سلول‌ها را از فشارهای اکسیدی که در سکته‌ی مغزی مؤثر هستند، حفظ می‌کند (۶). تأثیر این ویتامین در پیش‌گیری از آسیب کلیوی ناشی از برخی مواد یا داروها به ویژه در مطالعات حیوانی نشان داده شده است.

اغلب مطالعات انجام شده در زمینه‌ی کاهش سمیت کلیوی وانکومایسین از نوع حیوانی بوده است و مطالعات انسانی در مورد اثر ویتامین C بر سمیت داروهای مختلف محدود می‌باشد. از این رو، با توجه به شیوع بالای استفاده از وانکومایسین در بیماران بستری و سرپایی، این مطالعه با هدف تعیین اثربخشی ویتامین C در پیشگیری از سمیت کلیوی وانکومایسین انجام شد.

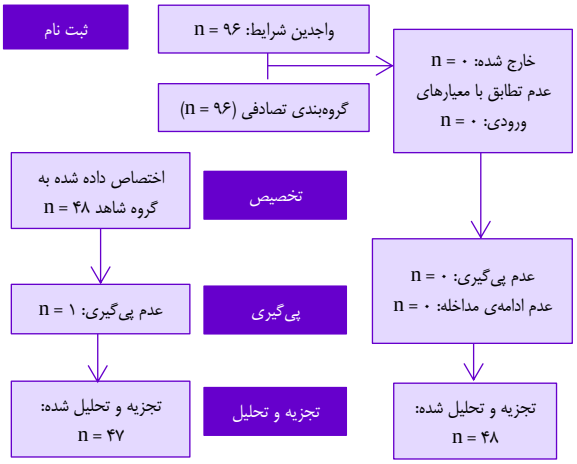
روش‌ها

این مطالعه از نوع کارآزمایی بالینی تصادفی شده بود که در سال‌های ۹۸-۱۳۹۷ در بیمارستان الزهرای (س) اصفهان انجام شد. این مطالعه با کد RCT20130311012782N15 در مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران و با کد IR.MUI.REC.1396.3.598 در کمیته ی اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ثبت شده است. جمعیت هدف مطالعه، بیماران تحت درمان با وانکومایسین بستری شده در این مرکز بودند.

معیارهای ورود به مطالعه شامل سن ۱۸ سال به بالا، درمان با وانکومایسین حداقل به مدت ۵ روز، کلیرانس کراتینین کمتر از ۶۰ میلی‌لیتر/دقیقه در بدو ورود به مطالعه و موافقت بیمار برای شرکت در مطالعه بودند. معیارهای عدم ورود به مطالعه شامل ابتلا به دیابت، سابقه‌ی بیماری کلیوی، سپسیس، دریافت سایر داروهای نفروتوکسیک از ۴ روز قبل از شروع درمان با وانکومایسین، دریافت سایر مکمل‌های آنتی‌اکسیدان و سابقه‌ی حساسیت به ویتامین C بود. قطع وانکومایسین (قبل از ۵ روز) به دلیلی به جز آسیب حاد کلیوی، بروز حساسیت به ویتامین C و تجویز هم‌زمان سایر داروهای نفروتوکسیک به عنوان معیار خروج از مطالعه در نظر گرفته شدند.

حجم نمونه طبق فرمول برآورد حجم نمونه جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها به تعداد ۴۸ نفر در هر گروه برآورد شد. روش نمونه‌گیری به شیوه‌ی آسان بود و بیماران بر حسب زمان بستری در صورت دارا بودن شرایط ورود، وارد مطالعه شدند. شکل ۱، فلوچارت انجام مطالعه را نمایش می‌دهد.

قبل از ورود به مطالعه، نحوه‌ی کار برای بیماران به طور کامل توضیح داده شد و فرم رضایت‌نامه توسط ایشان امضا گردید. افرادی که به هر دلیل داروی وانکومایسین دریافت نموده و سایر ملاک‌های ورود به مطالعه را داشتند، با استفاده از نرم‌افزار تخصیص تصادفی در دو گروه مورد و شاهد توزیع شدند. برای افراد گروه مورد، قرص ویتامین C (ساخت شرکت داروپخش) با دز ۵۰۰ میلی‌گرم دو بار در روز به مدت ۱۰ روز تجویز شد. بین مصرف ویتامین C و وانکومایسین، یک ساعت فاصله قرار داده شد. در گروه شاهد، هیچ مداخله‌ای انجام نشد. قبل از شروع درمان، حین درمان به صورت یک روز در میان و نیز ۱۲ ساعت پس از آخرین دز وانکومایسین در روز دهم درمان با این آنتی‌بیوتیک، سطح سرمی کراتینین و BUN اندازه‌گیری شد (۷). همچنین، یک روز در میان برون‌ده ادراری ۱۲ ساعته‌ی همه‌ی بیماران اندازه‌گیری و ثبت شد.



شکل ۱. فلوچارت روند اجرای مطالعه

نحوه‌ی کورسازی بدین صورت بود که داروی ویتامین C و دارونما در بسته‌بندی‌های مشابه و کدگذاری تهیه شد و برای تجویز در اختیار مجری طرح قرار گرفت. بیماران و مجری طرح، از محتوای بسته بی‌اطلاع بودند.

عملکرد باقی‌مانده‌ی کلیه با استفاده از فرمول Cockcroft-Gault، کلیرانس کراتینین برای همه‌ی بیماران به صورت یک روز در میان محاسبه شد. آسیب حاد کلیوی به عنوان افزایش کراتینین سرمی به میزان مساوی یا بیشتر از ۰/۵ میلی‌گرم/دسی‌لیتر و یا افزایش معادل یا بیشتر از ۵۰ درصد مقدار پایه ی قبل از شروع درمان (Baseline) تعریف شد. در صورت بروز آسیب حاد کلیه، جهت قطع درمان، بر اساس نظر تیم پزشکی معالج تصمیم‌گیری شد. فرمول Cockcroft-Gault برای محاسبه‌ی کلیرانس کراتینین بدین صورت می‌باشد:

$$ClCr\ (\frac{ml}{min}) = \frac{(140 - age) \times IBW}{72 \times SCr}$$

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار سطح سرمی کراتینین و کلیرانس کراتینین در دو گروه

روز	سطح سرمی کراتینین			کلیرانس کراتینین		
	مورد	شاهد	مقدار P*	مورد	شاهد	مقدار P*
۰	۰/۹۵ ± ۰/۱۷	۰/۹۹ ± ۰/۱۷	۰/۲۵۰	۸۲/۲۵ ± ۱۷/۲۴	۱۱۲/۸۷ ± ۲۶/۵۴	۰/۲۶۰
۲	۰/۹۲ ± ۰/۱۵	۰/۹۷ ± ۰/۱۹	۰/۲۰۰	۸۹/۸۵ ± ۱۹/۴۵	۹۷/۳۶ ± ۲۸/۴۶	۰/۱۴۰
۴	۰/۹۵ ± ۰/۲۳	۱/۰۴ ± ۱/۲۸	۰/۲۲۰	۹۱/۰۶ ± ۲۳/۹۸	۹۸/۹۵ ± ۲۷/۵۱	۰/۴۳۰
۶	۰/۹۷ ± ۰/۳۷	/۸۸ ± ۰/۲۱	۰/۱۰۰	۸۹/۷۲ ± ۲۶/۴	۹۷/۰۶ ± ۲۵/۹۶	۰/۳۹۰
۸	۱/۰۹ ± ۱/۰۶	۰/۸۷ ± ۰/۲۲	۰/۰۷۰	۹۰/۹۲ ± ۲۶/۵۲	۹۵/۵۳ ± ۲۸/۸۰	۰/۵۶۰
۱۰	۱/۰۹ ± ۱/۰۵	۰/۸۷ ± ۰/۳۲	۰/۰۷۰	۹۱/۵۸ ± ۲۶/۱۵	۱۰۱/۵۰ ± ۳۰/۹۶	۰/۱۲۰
مقدار P**	۰/۰۱۰	< ۰/۰۰۱	***۰/۱۲۰	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	***۰/۳۳۰

*تفاوت بین دو گروه در هر مقطع زمانی بر حسب آزمون t؛ **روند تغییرات درون گروهی بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA؛ *** روند تغییرات بین گروهی بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA

در این فرمول، age سن بر حسب سال، IBW وزن ایده‌آل بدن بر حسب kg و SCr کراتینین سرمی بر حسب mg/dl می‌باشد. لازم به ذکر است که برای زنان، مقدار حاصل از معادله‌ی پیش گفته در عدد ۰/۸۵ ضرب شد.

داده‌های مطالعه، در نهایت وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۵ (version 25, IBM Corporation, Armonk, NY) شد و با آزمون‌های آماری χ^2، t و Repeated measures ANOVA مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۹۶ بیمار تحت درمان با وانکومایسن در دو گروه ۴۸ نفره‌ی مورد و شاهد مورد مطالعه قرار گرفتند که در طی مدت مطالعه، ۱ بیمار از گروه شاهد به علت عدم تداوم درمان با وانکومایسین از مطالعه خارج شد. میانگین سن دو گروه مورد و شاهد به ترتیب ۱۸/۰۵ ± ۴۴/۹۵ و ۲۰/۵۲ ± ۴۶/۲۱ سال بود و بر حسب آزمون t، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه دیده نشد (P = ۰/۶۶۰). ۳۲ نفر از گروه مورد و ۳۴ نفر از گروه شاهد مرد و سایر بیماران زن بودند (P = ۰/۹۷۰). علل زمینه‌ای درمان با وانکومایسین شامل ۳۹ مورد (۴۰/۶ درصد) عفونت پای دیابتی، ۱۹ مورد (۱۹/۸ درصد) پنومونی، ۱۲ مورد (۱۹/۸ درصد) سلولیت، ۸ مورد (۸/۳ درصد) عفونت ادراری، ۷ مورد (۱۹/۸ درصد) اندوکاردیت، ۶ مورد (۶/۳ درصد) منتژیت و ۵ مورد (۵/۲ درصد) استئومیلیت بود.

در جدول ۱، میانگین و انحراف معیار سطح سرمی کراتینین و شاخص کلیرانس کراتینین از اولین روز شروع تا روز دهم درمان به تفکیک دو گروه آمده است. برابر نتایج به دست آمده، سطح سرمی کراتینین و شاخص کلیرانس کراتینین در هیچ یک از مقاطع زمانی مورد مطالعه بین دو گروه مورد و شاهد اختلاف معنی‌داری پیدا نکرد، اما در بررسی‌های درون گروهی، سطح سرمی کراتینین و کلیرانس کراتینین در طول مدت مداخله در هر دو گروه تفاوت معنی‌داری داشت، اما در بررسی‌های بین گروهی، روند تغییرات دو متغیر پیش‌گفته در بین دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. قابل ذکر است بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA، دو متغیر سن و جنس دارای اثر مخدوش کننده در نتایج مطالعه نبودند.

بررسی سطح سرمی اوره و برون‌ده ادراری در زمان‌های مورد بررسی نیز نشان داد سطح اوره‌ی خون در طی مدت مطالعه در درون هر دو گروه اختلاف معنی‌داری پیدا کرد، اما تفاوت بین دو گروه، معنی‌دار نبود. میانگین برون‌ده ادراری نیز در طی مدت مداخله در درون گروه‌ها و بین دو گروه، اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار سطح سرمی اوره و برون‌ده ادراری در دو گروه

روز	سطح سرمی اوره			برون‌ده ادراری		
	مورد	شاهد	مقدار P*	مورد	شاهد	مقدار P*
۰	۱۵/۳ ± ۷/۴	۱۴/۵ ± ۵/۹	۰/۱۳۰	۱۰۵۲/۰ ± ۱۵۸/۴	۱۱۰۳/۰ ± ۱۴۰/۴	۰/۰۹۰
۲	۱۵/۷ ± ۷/۰	۱۴/۶ ± ۶/۱	۰/۲۶۰	۱۰۹۰/۸ ± ۱۹۰/۴	۱۰۱۶/۰ ± ۸۸/۸	۰/۱۲۰
۴	۱۴/۵ ± ۷/۳	۱۴/۷ ± ۷/۳	۰/۸۸۰	۱۰۱۱/۵ ± ۹۷/۲۳	۱۰۴۰/۰ ± ۱۰۲/۵	۰/۳۳۰
۶	۱۳/۹ ± ۷/۲	۱۶/۵ ± ۱۲/۹	۰/۱۰۰	۱۲۰۴/۵ ± ۶۴/۴	۱۱۵۰/۶ ± ۸۰/۸	۰/۸۴۰
۸	۱۴/۱ ± ۷/۹	۱۵/۵ ± ۹/۹	۰/۲۷۰	۱۰۸۰/۸ ± ۵۳/۰	۱۰۴۶/۰ ± ۹۳/۹	۰/۶۵۰
۱۰	۱۴/۲ ± ۹/۱	۱۶/۷ ± ۱۱/۳	۰/۱۰۰	۱۱۴۰/۰ ± ۹۰/۰	۱۰۹۷/۷ ± ۱۰۵/۰	۰/۸۰۰
مقدار P**	۰/۰۱۲	۰/۰۱۳	***۰/۷۴۰	۰/۰۶۰	۰/۱۸۰	***۰/۱۲۰

*تفاوت بین دو گروه در هر مقطع زمانی بر حسب آزمون t؛ **روند تغییرات درون گروهی بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA؛ *** روند تغییرات بین گروهی بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA

انجام آزمون Logistic regression بر روی داده‌های پیش‌گفته نشان داد خطر نسبی بروز مسمومیت کلیوی در گروه شاهد نسبت به مصرف کنندگان ویتامین C، ۴/۱ برابر می باشد که از نظر آماری معنی‌دار بود (P = ۰/۰۳۴، Confidence interval = ۰/۰۶۵–۰/۸۹۷ یا CI ۹۵ درصد، Relative risk = ۴/۱ یا RR). در صورتی که سن و جنس بیماران، تأثیر معنی داری در کاهش یا افزایش خطر مسمومیت کلیوی نداشتند (جدول ۳).

جدول ۳. خطر نسبی بروز مسمومیت کلیوی در دریافت کنندگان وانکومایسین

متغیر	خطر نسبی	دامنه‌ی اطمینان	مقدار P
عدم مصرف ویتامین C	۴/۱۰۰	۱/۱۰۰–۱۵/۴۰۰	۰/۰۳۴
جنس مرد	۰/۱۵۰	۰/۰۱۹–۱/۱۸۰	۰/۰۷۱
سن	۱/۰۰۶	۰/۹۸۷–۱/۰۳۴	۰/۶۸۰

برابر نتایج مطالعه، در طی مدت بررسی، ۳ نفر (۶/۳ درصد) از گروه مورد و ۶ نفر (۱۲/۸ درصد) از گروه شاهد دچار مسمومیت دارویی شدند، اما تفاوت بین دو گروه معنی‌دار نبود (P = ۰/۳۲۰).

بحث

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، نشان داد مصرف روزانه‌ی ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در بیماران تحت درمان با وانکومایسین به طور معنی‌داری از بروز مسمومیت کلیوی ناشی از مصرف وانکومایسین می‌کاهد. در مطالعه‌ی Appenroth، اثر کافئیک اسید فنیل استر، ویتامین C، ویتامین E و N– استیل سیستئین به عنوان عوامل محافظت کننده در برابر سمیت کلیوی وانکومایسین در حیوانات آزمایشگاهی (Rat) به صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت که نتایج مطالعه نشان داد مصرف چهار ماده‌ی مورد مطالعه (کافئیک اسید فنیل استر، ویتامین C، ویتامین E و N– استیل سیستئین) باعث کاهش مسمومیت کلیوی ناشی از وانکومایسن می‌گردد (۸). در مطالعه‌ی Maliakel و همکاران، مصرف ویتامین های C و E با کاهش مسمومیت کلیوی ناشی از وانکومایسن همراه بود (۹).

در مطالعه‌ای بر روی موش‌ها، مشخص شد این ویتامین‌ها بر کاهش نارسایی کلیوی ناشی از فلزات سنگین Chromate و Thallium مؤثر هستند (۱۰). تأثیر ویتامین های C و E بر کاهش نفروتوکسیسیته‌ی ناشی از جنتامایسین بر موش‌ها (۱۱) و خوکچه‌ها (۱۲) نیز تأیید شده است و مصرف هم زمان این دو ویتامین، اثر چشم‌گیری در پیش‌گیری از افزایش کراتینین در موش‌هایی داشته است که به آن‌ها کلیستین تزریق شده بود (۱۳).

در یک مطالعه، نشان داده شد در بیماران نارسایی مزمن کلیوی که تحت دریافت رادیوکنتراست برای آنژیوگرافی کرونر قرار گرفتند، تفاوتی بین گروه شاهد و گروه ویتامین C در پیش‌گیری از نفروپاتی ناشی از کنتراست دیده نشد (۱۴)، اما مطالعه ی دیگری نشان داد استفاده از ویتامین C کاهش بروز نفروپاتی کنتراست را به همراه داشته است (۱۵)؛ نتایج مطالعات پیش گفته، همسو و مؤید نتایج مطالعه‌ی حاضر می‌باشد. با توجه به این که ویتامین C یک آنتی‌اکسیدان قدرتمند بدن محسوب می گردد، به نظر می‌رسد این ویتامین دارای کارایی مناسب در پیش گیری از مسمومیت ناشی از مصرف وانکومایسین می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی این که مصرف ویتامین C باعث کاهش خطر بروز مسمومیت کلیوی ناشی از مصرف وانکومایسین می گردد و با توجه به مفید بودن این ویتامین در پیش‌گیری از مسمومیت‌های ناشی از استرس اکسیداتیو، مصرف آن پیشنهاد می‌شود. در عین حال، با توجه به محدودیت های این مطالعه از جمله کمی حجم نمونه و کوتاه بودن دوره‌ی پی گیری، پیشنهاد می گردد مطالعات بیشتری در این زمینه انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر، حاصل پایان‌نامه‌ی دکتری تخصصی در رشته‌ی بیماری‌های عفونی است که با شماره‌ی ۳۹۶۱۱۴ در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده ی پزشکی تصویب و اجرا شد و بدین وسیله، از زحمات این معاونت سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Rybak MJ, Lomaestro BM, Rotschafer JC, Moellering RC, Craig WA, Billeter M, et al. Vancomycin therapeutic guidelines: A summary of consensus recommendations from the infectious diseases Society of America, the American Society of Health-System Pharmacists, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. Clin Infect Dis 2009; 49(3): 325-7.
2. Pauly DJ, Musa DM, Lestico MR, Lindstrom MJ, Hetsko CM. Risk of nephrotoxicity with combination vancomycin-aminoglycoside antibiotic therapy. Pharmacotherapy 1990; 10(6): 378-82.
3. Rahimzadeh G, Farshidi F, Rezai MS, Rezai S. The effect of bacteriophages against gram-negative bacteria infections in vivo: A systematic review. J Isfahan Med Sch 2019; 37(524): 427-34. [In Persian].
4. Iwamoto T, Kagawa Y, Kojima M. Clinical efficacy of therapeutic drug monitoring in patients receiving

vancomycin. Biol Pharm Bull 2003; 26(6): 876-9.
5. Ceriello A, Esposito K, Ihnat M, Thorpe J, Giugliano D. Long-term glycemic control influences the long-lasting effect of hyperglycemia on endothelial function in type 1 diabetes. J Clin Endocrinol Metab 2009; 94(8): 2751-6.
6. Basarslan F, Yilmaz N, Ates S, Ozgur T, Tutanc M, Motor VK, et al. Protective effects of thymoquinone on vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. Hum Exp Toxicol 2012; 31(7): 726-33.
7. Vora S. Acute renal failure due to vancomycin toxicity in the setting of unmonitored vancomycin infusion. Proc (Bayl Univ Med Cent) 2016; 29(4): 412-3.
8. Appenroth D, Frob S, Kersten L, Splinter FK, Winnefeld K. Protective effects of vitamin E and C on cisplatin nephrotoxicity in developing rats. Arch Toxicol 1997; 71(11): 677-83.
9. Maliakel DM, Kagiya TV, Nair CK. Prevention of cisplatin-induced nephrotoxicity by glucosides of ascorbic acid and alpha-tocopherol. Exp Toxicol Pathol 2008; 60(6): 521-7.
10. Panonnummal R, Varkey J, Dinoop DR. Protective effect of atorvastatin against vancomycin induced nephrotoxicity in albino rats. Pharmacie globale 2011; 2(8): 1-6.
11. Dalaklioglu S, Tekcan M, Gungor NE, Celik-Ozenci C, Aksoy NH, Baykal A, et al. Role of the poly(ADP-ribose)polymerase activity in vancomycin-induced renal injury. Toxicol Lett 2010; 192(2): 91-6.
12. Hung YM, Lin SL, Hung SY, Huang WC, Wang PY. Preventing radiocontrast-induced nephropathy in chronic kidney disease patients undergoing coronary angiography. World J Cardiol 2012; 4(5): 157-72.
13. Spargias K, Alexopoulos E, Kyrzopoulos S, Iokovis P, Greenwood DC, Manginas A, et al. Ascorbic acid prevents contrast-mediated nephropathy in patients with renal dysfunction undergoing coronary angiography or intervention. Circulation 2004; 110(18): 2837-42.
14. Akundi S, Lee YR, Perry GK, Fike DS, Mnjoyan S. Nephrotoxicity in recipients of vancomycin vs. vancomycin with vitamin C. International Journal of Medicine and Pharmacy 2015; 3(2): 1-15.
15. Levey AS, Coresh J, Greene T, Marsh J, Stevens LA, Kusek JW, et al. Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. Clin Chem 2007; 53(4): 766-72.

DOI: *10.22122/jims.v37i542.12184* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 37, No. 542, 2nd Week, November 2019**

Received: 23.05.2019 Accepted: 26.09.2019 Published: 30.10.2019

The Effect of Vitamin C in Preventing Vancomycin-Induced Nephrotoxicity; A Randomized Clinical Trial Study

Mohamadreza Yazdani[1], Rasoul Soltani[2], Farzin Khorvash[3], Mohsen Gudarzi[4], Sholeh Yaghoubi[4]

Original Article

Abstract

Background: Vancomycin-induced nephrotoxicity is a common complication in patients under treatment with this drug, but no single theory has been proposed for prevention of this damage. The purpose of this study was to determine the beneficial effect of vitamin C in the preventing vancomycin-induced renal disease.

Methods: In a clinical trial study, 96 patients treated with vancomycin were divided into two equal groups, in the first group 500 mg oral vitamin C was administered twice daily for ten days and in the control group, no intervention was performed. Patients in the two groups were evaluated at baseline, and 2, 4, 6, 8, and 10 days later for serum creatinine, creatinine clearance, and renal toxicity, and the results were compared.

Findings: The incidence of vancomycin-induced nephrotoxicity was 3 and 6 patients in the intervention and control groups (6.25% vs. 12%), respectively, and there was no significant difference between the two groups (P = 0.320). However, the relative risk (RR) of vancomycin-induced nephrotoxicity in the control group was 4.1 times that of the vitamin C group [RR = 4.1; 95% confidence interval (CI): 1.12-15.4; P = 0.034].

Conclusion: Vitamin C intake reduces the risk of vancomycin-induced renal toxicity; it is recommended, as is useful in preventing oxidative stress poisoning.

Keywords: Vitamin C, Vancomycin, Nephrotoxicity

Citation: Yazdani M, Soltani R, Khorvash F, Gudarzi M, Yaghoubi S. **The Effect of Vitamin C in Preventing Vancomycin-Induced Nephrotoxicity; A Randomized Clinical Trial Study.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(542): 1068-73.

1- Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Department of Pharmacology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Professor, Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Resident, Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mohsen Gudarzi, Email: gudarz77@yahoo.com

DOI: 10.22122/jims.v37i542.12105 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هفتم/شماره‌ی ۵۴۲/هفته‌ی دوم آبان ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۴ تاریخ چاپ: ۱۳۹۸/۸/۸

بررسی تأثیر نشانگرهای تومور ER، Her2 و Ki67 بر روی بقای بلند مدت و کوتاه مدت زنان مبتلا به سرطان پستان با استفاده از مدل شفا یافته‌ی Bayesian

مرتضی محمدزاده[۱]، حسین فلاح‌زاده[۲]، نیما پهلوانی[۳]، فریبا بینش[۴]، ویدا پهلوانی[۱]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سرطان پستان، دومین علت عمده‌ی مرگ ناشی از سرطان در بین زنان است که عوامل مختلفی در ایجاد آن دخالت دارند. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر نشانگرهای تومور مهم بر روی بقای زنان مبتلا به این سرطان با استفاده از واکاوی شفا یافته‌ی Bayesian (Bayesian cure analysis) بود.

روش‌ها: این مطالعه به صورت تحلیل بقای گذشته‌نگر با استفاده از روش Kaplan-Meier و مدل شفا یافته‌ی Bayesian انجام شد. اطلاعات لازم برای تمامی ۵۰۰ زن مبتلا به سرطان پستان مراجعه کننده به مرکز پرتودرمانی شهید رمضان‌زاده یزد از سال‌های ۹۴-۱۳۸۹ ثبت گردید. از نرم‌افزار R نسخه‌ی ۳،۶،۱ برای واکاوی داده‌ها استفاده و $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: با استفاده از روش Kaplan-Meier میزان بقای ۶ ساله‌ی زنان مبتلا به سرطان پستان ۰/۷۳۷ برآورد گردید. میانگین سنی ۱۱/۱۶ ± ۴۸/۰۳ سال و میانگین زمان بقا، ۴/۲۳ ± ۹۷/۶۴ ماه بود. نتایج حاصل از واکاوی شفا یافته‌ی Bayesian نشان داد که متغیرهای Ki67 (۱/۰۱-۲/۲۸ = Prediction intervals یا ۹۵ PI درصد، ۱/۳۴ = Hazard ratio یا HR) و Estrogen receptor (ER) (۱/۹۹-۲/۳۶ = ۹۵ PI درصد، ۲/۱۱ = HR) بر روی مخاطره‌ی مرگ و متغیر ER (۰/۲۶-۰/۵۷ = ۹۵ PI درصد، ۰/۳۸ = OR) روی بهبودی بیماران تأثیر معنی‌داری داشتند.

نتیجه‌گیری: طبق واکاوی شفا یافته‌ی Bayesian در این مطالعه، متغیر گیرنده‌ی استروژن، بر روی بقای کوتاه مدت و بهبودی بیماران مؤثر بود. می‌توان از مدل‌های شفا یافته، در شرایط مناسب برای تحلیل بقای بیماران با درصد بالای بهبودی استفاده و بقای بلند مدت بیماران را از بقای کوتاه مدت آنان جدا نمود. این روش آماری، می‌تواند تفسیر دقیق‌تری از آن چه در بقای داده‌ها وجود دارد، ارایه نماید.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، آنالیز بقا، روش Bayesian، گیرنده‌ی استروژن

ارجاع: محمدزاده مرتضی، فلاح‌زاده حسین، پهلوانی نیما، بینش فریبا، پهلوانی ویدا. **بررسی تأثیر نشانگرهای تومور ER، Her2 و Ki67 بر روی بقای بلند مدت و کوتاه مدت زنان مبتلا به سرطان پستان با استفاده از مدل شفا یافته‌ی Bayesian.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۴۲): ۱۰۷۴-۱۰۷۹

مقدمه

سرطان‌ها بیماری‌های مزمنی هستند که در دهه‌های اخیر در بسیاری از جوامع، میزان بالایی از مرگ‌ها را به خود اختصاص می‌دهند. درمان های موجود در مورد سرطان نیز اغلب ضمن دارا بودن عوارض متعدد، هزینه‌بر می‌باشند و میزان پاسخ‌دهی به درمان نیز در بسیاری از موارد کامل نیست (۱). در این میان، سرطان پستان شایع‌ترین علت مرگ در زنان ۴۴-۴۰ ساله در بسیاری از کشورهای پیشرفته و در حال توسعه و همچنین، دومین علت مرگ ناشی از سرطان پس از سرطان ریه می‌باشد و یک مشکل بزرگ سلامت عمومی در سراسر جهان به شمار می‌آید که بر طبق آمار سازمان بهداشت جهانی، میزان بروز آن ۲-۱/۸ درصد در سال رو به افزایش است (۲). بر اساس آخرین آمار اعلام شده، میزان ابتلا به سرطان پستان در زنان ایرانی،

۱- دانشجوی دکتری، گروه آمار زیستی، دانشکده‌ی علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مدرس تهران، تهران، ایران
۲- استاد، گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۴- استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: ویدا پهلوانی
Email: vida.pahlevani@gmail.com

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

۲۷/۵ در ۱۰۰۰ نفر است. میزان بقای ۵ ساله در این بیماران، در مراکز مختلف بین ۸۴-۴۸ درصد و میزان بقای کلی ۷۲ درصد است (۳). این سرطان، نوعی بیماری وابسته به هورمون و پرولیفراسیون بدخیم آن دسته از سلول‌های اپی‌تلیال است که مجاری یا لوبول‌های پستان را می‌پوشاند (۴). از آن جایی که روش‌های مناسب‌تر غربالگری و پیش‌گیری از وقوع این بیماری و همچنین، روش‌های تشخیصی و درمانی جدید و دقیق‌تری برای سرطان پستان به وجود آمده است (۵)، به نظر می‌رسد که در آینده‌ی نزدیک و در سال‌های آتی، میزان مرگ و میر ناشی از این بیماری به خصوص در کشورهای توسعه یافته، کاهش چشم‌گیری داشته و میزان بقا در این بیماری رو به افزایش باشد (۶).

از عواملی که با کاهش بقا در این بیماری در ارتباط هستند، می‌توان به مراحل بالاتر بیماری، سن بالا، افزایش تعداد غدد لنفاوی درگیر، افزایش شدت بالاتر تومور، بیان گیرنده‌های منفی استروژنی و پروژسترونی، بیان بالای انکوژن‌هایی نظیر عامل رشد اپیدرمی انسانی، دریافت انواع درمان‌ها مانند جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی، وضعیت اقتصادی و اجتماعی پایین مانند تحصیلات پایین اشاره کرد (۳).تحلیل بقا، مجموعه‌ای از روش‌های آماری برای تحلیل داده‌هایی است که متغیر پیامد در آن‌ها زمان تا رخداد یک پیشامد خاص است. منظور از زمان در تحلیل بقا، می‌تواند تعداد سال‌ها، ماه‌ها، هفته‌ها یا روزها از شروع پی‌گیری یک فرد تا رخداد پیشامد مورد نظر برای وی باشد. در تحلیل‌های بقا، به طور معمول، متغیر زمان را زمان بقا می‌نامیم؛ چرا که این متغیر، تعیین کننده‌ی مدت زمانی است که یک فرد در طول دوره‌ی پی‌گیری «بقا یافته» است؛ چرا که به طور معمول در این نوع تحلیل‌ها، پیشامدهای مورد نظر مرگ، وقوع بیماری یا سایر تجربه‌های فردی است، پیشامد مورد نظر را شکست می‌نامیم. در حالی که زمان بقا ممکن است زمان تا برگشت به کار پس از یک عمل جراحی باشد که در این صورت، شکست یک پیشامد مثبت خواهد بود (۴).

ایده‌ی وجود بقای طولانی مدت یا وجود افراد شفا یافته، هنگامی که در داده‌های بقا سانسور شدگی وجود دارد، یک ایده‌ی قدیمی است. مدل‌های شفا یافته، به دو دسته‌ی کلی مدل‌های شفا یافته‌ی آمیخته و مدل‌های شفا یافته‌ی ناآمیخته تقسیم می‌شوند. در مدل‌های شفا یافته‌ی آمیخته، فرض بر این است که جامعه از دو دسته بیماران ناهمگن تشکیل شده است. دسته‌ی اول، بیمارانی هستند که در معرض رخداد مرگ قرار دارند و در مدت زمان معقولی پس از شروع مطالعه مرگ را تجربه خواهند کرد و دسته‌ی دوم، بیمارانی هستند که در معرض رخداد حادثه قرار ندارند. البته، در معرض رخداد حادثه نبودن این افراد، به معنی تجربه نکردن مرگ تا زمان بی‌نهایت نیست؛ بلکه تعبیری ریاضی است به این مفهوم که در زمان معقولی رخداد مرگ را تجربه نمی‌کنند. بخش دوم مدل، درصد باقی‌مانده‌ی بیماران خواهد بود که در معرض رخداد حادثه قرار دارند و می‌تواند تابعی از متغیرهای مطالعه باشد (۷). وجود بیماران با بقای بلند مدت و کافی بودن مدت زمان مطالعه با استفاده از آزمون‌های آماری قابل بررسی است. از آن جایی که در مطالعات بقا اغلب افزایش حجم نمونه نیازمند صرف هزینه‌های زیادی است و همچنین، مدل شفا یافتگی به صورت هم‌زمان نقش متغیرهای توضیحی بر روی بقای طولانی مدت و کوتاه مدت را برآورد می‌کند، تخمین متغیرهای مدل با مشکل مواجه می‌شود.

هدف از انجام این مطالعه، استفاده از رهیافت Bayesian در تعیین میزان بقای بلند مدت (شفا یافتگی) و کوتاه مدت بیماران مبتلا به سرطان پستان و عوامل مرتبط با آن، به ویژه نشانگرهای تومور، با استفاده از مدل شفا یافته‌ی آمیخته بود. روش بیز، با استفاده از توزیع‌های پیشین که در مقالات و طرح‌های مشابه قابل دسترس، ضرورت تکرار نمونه‌گیری با حجم بالا را به حداقل رسانده است (۸). در این روش، امکان استفاده از ترکیب اطلاعات قبلی در نتیجه‌گیری و استنباط وجود دارد (۹).

روش‌ها

این مطالعه به صورت تحلیل بقای گذشته‌نگر (Retrospective survival analysis) با روش Kaplan-Meier و مدل شفا یافته‌ی Bayesian (Bayesian cure analysis) انجام شد و در مرداد ماه سال ۱۳۹۵ با کد اخلاق IR.SSU.SPH.REC.1395.64 تصویب شد. چک لیستی شامل مشخصات بیماران، عوامل مورد بررسی (Her2، Ki67، گیرنده‌ی استروژن (Estrogen receptor یا ER)، سن (۴۰ سال < یا ≤ ۴۰ سال)، روش جراحی شامل ماستکتومی یا Breast conserving therapy (BCT)، مرحله‌ی بیماری (اولیه یا پیشرفته) و درگیری غدد لنفاوی (دارد یا ندارد) تهیه شد. شرط ورود به مطالعه، تشخیص سرطان پستان با استفاده از آزمون (ImmunoHistoChemistry یا IHC) است و شرط خروج، داشتن عوارض جانبی ناشی از درمان همراه (مانند پرتودرمانی) در کنار درمان اصلی (جراحی و ماستکتومی) بود.

در این مطالعه، افراد دارای عوارض جانبی به عنوان سانسور در نظر گرفته شدند. سپس، از پرونده‌های بیماران موجود در بایگانی مرکز پرتودرمانی شهید رمضان‌زاده در شهر یزد که مبتلا به سرطان پستان بودند، از ابتدای سال ۱۳۸۹ تا پایان سال ۱۳۹۴ را بررسی و تماس تلفنی جهت بررسی بقای ۵۰۰ نفر از بیماران به صورت سرشماری انجام شد. این مطالعه، به صورت تحلیلی و هم‌گروهی از

نوع واکاوی بقا می‌باشد. فرض کنیم داده‌ها سانسور راست باشند. تابع احتمال مدل شفای آمیخته را می‌توان به صورت زیر نوشت:

$$S(t \mid X = x) = S(t \mid X = x, Z = 1)p + (1 - p)S(t \mid X = x, Z = 0) = p + (1 - p)S(t \mid X = x, Z = 0),$$

و تابع درست‌نمایی مدل شفای آمیخته برای فرد i ام به صورت زیر است:

$$L(\theta, p) = \prod_{i=1}^{n}(f(t_i \mid \theta, X_i, Z_i = 0)(i - p))^{\delta_i}(p^{z_i}(S(t_i \mid \theta, X_i, Z_i - 0)(1 - p)^{1-z_i})^{1-\delta_i}$$

به طوری که $\delta = 0$ بیانگر سانسور و در غیر این صورت رویداد است. همچنین، با استفاده از تابع ربط Logit داریم:

$$p_i = \frac{\exp(x_i^T\theta)}{1+\exp(x_i^T\theta\prime)}$$

$S(.)$ تابع بقای Vibol و x ماتریس متغیرهای مستقل است. در دیدگاه Bayesian، توزیع‌های پیشین آگاهی‌بخش برای θ در نظر گرفته شد و با استفاده از نمونه‌گیری Markov chain Monte Carlo (MCMC) با ۵۰۰۰۰ تکرار، توزیع پسین تقریب زده شد. شاخص‌های آماری و نمودارهای مناسب جهت بهینه بودن مدل Bayesian بررسی شدند. متغیرهای اصلی در این مطالعه، نشانگرهای تومور Ki67، Her2 و ER بودند. با این وجود، مدل شفای Bayesian بر اساس متغیرهای مخدوشگری نظیر سن، مرحله‌ی بیماری، نحوه‌ی جراحی و تعداد گره‌های لنفاوی تصحیح شده است. از بسته‌های R2OpenBugs (۱۰) و Coda (۱۱) تحت نرم‌افزار R برای واکاوی شفای آمیخته‌ی Bayesian در این مطالعه استفاده شد. برای آزمون بررسی اثر متغیرهای مستقل بر روی بقای بلند مدت و کوتاه مدت، $P <$ ۰/۰۵۰ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این پژوهش، ۵۰۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان وارد مطالعه شدند که 78 درصد آن‌ها سانسور شدند. با استفاده از روش Kaplan-Meier، میزان بقای ۶ ساله‌ی زنان مبتلا به سرطان پستان ۰/۷۳۷ برآورد شد. در این مطالعه، بیماران با میانگین سنی ۱۱/۱۶ ± ۴۸/۰۳ سال حضور داشتند. میانگین زمان بقای بیماران ۴/۲۳ ± ۹۷/۶۴ ماه و میانگین نرخ شفا یافتگی، ۰/۵۸ ماه به دست آمد. نتایج آمار توصیفی، در جدول ۱ ارایه شده است.

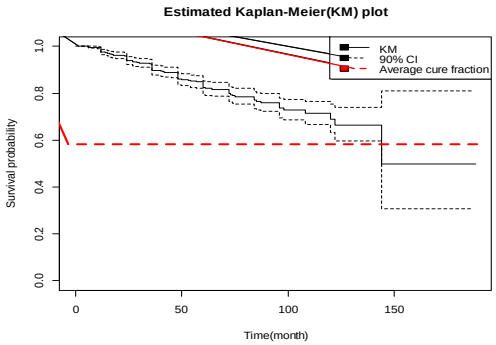
نتایج بررسی عوامل مؤثر بر بقای بیماران بر اساس تحلیل بیزی بر ای مدل شفا یافته‌ی آمیخته در جدول ۲ آمده است.

برآورد Kaplan-Meier برای بقای بیماران با فاصله‌ی اطمینان ۹۰ درصد در قالب نمودار شکل ۱ رسم شده است. آزمون وجود بیماران با بقای بلند با فرض مدل سانسور شدگی مستقل با روش پیشنهادی Maller و Zhou انجام شد. با توجه به شکل ۱، برآورد نقطه‌ی بیماران با بقای بلند مدت ۰/۵۸ به دست آمد.

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

عوامل خطر		تعداد (درصد)	زمان بقا میانگین ± انحراف معیار
سن (سال)	۴۰ >	۱۳۲ (24/5)	۸۴/۸۱ ± ۶/۱۷
	۴۰ ≤	۴۰۶ (75/5)	۳/۹۸ ± ۳/۹۸
گیرنده‌ی	مثبت	۲۶۴ (62/6)	۱۰۴/۲۴ ± ۴/۳۱
استروژن (ER)	منفی	۱۵۸ (37/4)	۹۰/۹۷ ± ۷/۲۹
Ki67	مثبت	۲۸۷ (90/8)	۸۷/۷۴ ± ۴/۴۵
	منفی	۲۹ (9/2)	۸۷/۲۶ ± ۸/۲۲
درگیری غدد	ندارد	۱۷۶ (33/۰)	۱۰۲/۴۸ ± ۶/۲۶
لنفاوی	دارد	۳۵۷ (67/۰)	۹۸/۱۶ ± ۳/۵۸
روش جراحی	BCT	۳۱۲ (58/۰)	۱۰۰/۷۱ ± ۳/۴۳
پستان	ماستکتومی	۲۲۶ (42/۰)	۹۳/۵۲ ± ۳/۸۰
Her2	مثبت	۱۱۵ (30/7)	۹۸/۷۸ ± ۳/۹۴
	منفی	۲۵۹ (69/3)	۷۸/۰۶ ± ۲/۴۸
مرحله‌ی بیماری	مرحله‌ی اولیه	۱۰۰ (18/6)	۴۱/۲۱۰ ± ۶/۵۶
(Stage)	مرحله‌ی پیشرفته	۴۳۸ (81/4)	۳۷/۱۲۳ ± ۳/۷۷

همچنین، از ۵۰۰ بیمار تحت درمان، ۱۰۹ زمان مرگ سانسور نشده وجود داشت. بنابراین، درصد سانسور شدگی ۷۹ درصد بود. این اطلاعات، با جدول پیشنهادی Maller و Zhou منطبق شد (۱۲). در ادامه، بررسی شد که «آیا مدت زمان پی‌گیری کافی بوده یا وجود بیماران زنده در انتهای مطالعه تنها به خاطر کوتاه بودن طول مطالعه است؟». با توجه به جدول پیشنهادی Maller و Zhou در سطح ۰/۰۵، می‌توان فرض کافی بودن مدت زمان پی‌گیری را پذیرفت. بنابراین، از نظر آماری دو پیش فرض لازم برای مدل شفا یافته برقرار است.



شکل ۱. نمودار بقا با استفاده از روش Kaplan-Meier

جدول ۲. نتایج برازش مدل COX شفا یافته‌ی Bayesian

عوامل خطر		مدل Bayesian COX برای افراد مستعد		مدل Bayesian Logistic برای افراد ایمن (شفا یافته)	
		فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد	نسبت مخاطره	فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد	نسبت شفا یافتگی
عرض از مبدأ		(۰/۰۰۶–۰/۰۰۷)	۰/۰۰۷	(۰/۲۵۰–۱/۲۶۰)	۰/۵۸۰
گیرنده‌ی استروژن	مثبت	(۱/۹۹۰–۲/۳۶۰)*	۲/۱۱۰	(۰/۲۶۰–۰/۵۷۰)*	۰/۳۸۰
	منفی	۱		۱	
Ki67	مثبت	(۱/۰۱۰–۲/۲۸۰)*	۱/۳۴۰	(۰/۳۷۰–۱/۸۶۰)	۰/۸۹۰
	منفی	۱		۱	
Her2	مثبت	(۰/۶۱۰–۱/۰۹۰)	۰/۷۵۰	(۰/۹۱۰–۲/۳۹۰)	۱/۴۹۰
	منفی	۱		۱	

*معنی‌داری در سطح P < ۰/۰۵۰

بحث

این پژوهش، به منظور بررسی عوامل مؤثر بر سرطان پستان با استفاده از روش شفا یافته‌ی آمیخته‌ی Bayesian مورد ارزیابی قرار گرفت. این مطالعه، اولین مطالعه در شهرستان یزد بود که تأثیر نشانگرهای تومور را بر روی شانس شفا یافتگی بیماران سرطان سینه با دیدگاه Bayesian مورد مطالعه قرار داد. در تحلیل داده‌های بقایی که در آن‌ها به دلیل وجود افراد شفا یافته، سانسور شدگی در پایان مطالعه زیاد است، مدل‌های شفا یافته برازش بهتری به داده‌ها دارند و روش کاربردی در حیطه‌ی پزشکی به شمار می‌آید. همچنین، در گذشته مطالعات در زمینه‌ی بقای بیماران کمتر بوده‌اند، اما در دهه‌ی اخیر، استفاده از تحلیل‌های شفا یافتگی بسیار حایز اهمیت می‌باشد و روشی نوینی محسوب می‌شود (۱۳).

بر طبق تحلیل بقای کوتاه مدت Bayesian، متغیرهای Ki67 و ER معنی‌دار شدند و در واکاوی شفا یافتگی این مطالعه، فقط متغیر ER معنی‌دار شد و مخاطره‌ی مرگ برای بیمارانی با Ki67 مثبت، ۱/۳۴ برابر بیماران با Ki67 منفی به دست آمد. همچنین، شانس شفا یافتن برای بیماران با Ki67 مثبت، ۰/۸۹ درصد بیماران با Ki67 منفی شد. بر روی نقش Ki67 در سرطان پستان، همواره اختلاف نظرهای زیادی مطرح بوده است.

در پژوهش‌های Nishimura و همکاران (۱۴) و نیز Jurikova و همکاران (۱۵)، بالاتر بودن Ki67 با درجه‌ی بدخیمی بیشتر و بقای کمتر همراه بوده است. فلاح‌زاده و همکاران (۱۶) در پژوهش مشابهی، همسو با یافته های مطالعه‌ی حاضر دریافتند که بیماران با Ki67 مثبت، مخاطره‌ی بیشتری دارند. تمامی مطالعات پیش گفته، فقط بقای کوتاه مدت بیماران را محاسبه کردند و نسبت شفا یافتگی را برای این بیماران به دست نیاوردند.

Savci-Heijink و همکاران (۱۷)، در مطالعاتی تقش Ki67 را بر روی شفای بیماران معنی دار یافتند. در مطالعه‌ی حاضر، همانند مطالعات سعادتمند و همکاران (۱۸) و نیز فلاح‌زاده و همکاران (۱۶)، متغیر Her2 بر روی بقا ی زنان مبتلا به این بیماری معنی‌دار نشد، اما در مطالعه‌ی Unni و همکاران (۱۹)، متغیر Her2 بر روی شفای درصد کمی از بیماران مبتلا به سرطان پستان تأثیرگذار بود.

در این مطالعه، تأثیر متغیر ER هم بر روی بقا و هم بر روی شفای بیماران معنی دار شد. مخاطره‌ی مرگ برای بیماران با ER مثبت، ۲/۱۱ برابر بیماران با ER منفی به دست آمد. همچنین، شانس شفا یافتن برای بیماران با ER مثبت، ۰/۸۳ درصد بیماران با ER منفی شد. در بیشتر مطالعات نظیر مطالعات Vostakolaei و همکاران (۲۰) و نیز Candido Dos Reis و همکاران (۲۱)، این نتایج که بیماران با ER مثبت مخاطره‌ی بیشتری را نسبت به سایر بیماران تجربه می‌کنند، تأیید شده است، اما در مطالعه ی جعفری کوشکی و همکاران (۲۲) که از مدل شفا یافته‌ی Bayesian برای یافتن عوامل خطر این بیماری استفاده شده بود، تفاوت معنی‌داری حاصل نشد که این تفاوت، می‌تواند ناشی از اختلاف در حجم نمونه باشد.

یکی از محدودیت‌های اصلی پژوهش‌ها، پایین بودن حجم نمونه است. روش Bayesian با تکیه به اطلاعات برگرفته از متاآنالیزها و منابع علمی، امکان نتایج دقیق حتی در نمونه‌های کم را می‌دهد (۲۳). از آن جایی که نمونه‌گیری با حجم بالا با محدودیت‌هایی نظیر هزینه‌های هنگفت، زمان طولانی و بروز مشکلات با تأخیر همراه است، استفاده از مدل Bayesian، این مشکل را جبران می‌نماید.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از کلیه‌ی کارکنان بیمارستان شهید صدوقی یزد که زمینه های لازم برای اجرا و جمع آوری اطلاعات مورد نیاز این مطالعه را فراهم نمودند، تشکر و قدردانی نمایند.

References

1. Harirchi I, Karbakhsh M, Kashefi A, Momtahen AJ. Breast cancer in Iran: Results of a multi-center study. Asian Pac J Cancer Prev 2004; 5(1): 24-7.
2. Asadi-Samani M, Rafieian-Kopaei M, Lorigooini Z, Shirzad H. A screening for discovering anticancer herbal drugs. J Pharm Pharmacogn Res 2019; 7(3): 213-22.
3. Campone M, Fumoleau P, Bourbouloux E, Kerbrat P, Roche H. Taxanes in adjuvant breast cancer setting: Which standard in Europe? Crit Rev Oncol Hematol 2005; 55(3): 167-75.
4. Kleinbaum DG, Klein M. Survival analysis: A self-learning text. vol 3. New York, NY: Springer; 2010.
5. von Minckwitz G, Huang CS, Mano MS, Loibl S, Mamounas EP, Untch M, et al. Trastuzumab emtansine for residual invasive HER2-positive breast cancer. N Engl J Med 2019; 380(7): 617-28.
6. Mohammadpour M, Yaseri M, Mahmoudi M, Entezar Mahdi R. Estimation of survival in women diagnosed with breast cancer with cure survival in West-Azerbaijan and East-Azerbaijan Provinces. J Sch Public Health Inst Public Health Res 2018; 16(1): 63-74. [In Persian].
7. Wienke A. Frailty models in survival analysis. Boca Raton, FL: Chapman and Hall/CRC; 2010.
8. Lunn D, Jackson C, Best N, Thomas A, Spiegelhalter D. The BUGS book: A practical introduction to Bayesian analysis. Boca Raton, FL: Chapman and Hall/CRC; 2012.
9. van Ravenzwaaij D, Cassey P, Brown SD. A simple introduction to Markov Chain Monte-Carlo sampling. Psychon Bull Rev 2018; 25(1): 143-54.
10. Sturtz S, Ligges U, Gelman A. R2WinBUGS: A package for running WinBUGS from R. J Stat Softw 2005; 1(3): 1-16.
11. Plummer M, Best N, Cowles K, Vines K. CODA: Convergence diagnosis and output analysis for MCMC. R News 2005; 6(1): 7-11.
12. Maller RA, Zhou X. Survival analysis with long-term survivors. Chichester, NY: Wiley; 1996.
13. Rahimzadeh M, Baghestani AR, Gohari MR, Pourhoseingholi MA. Estimation of the cure rate in Iranian breast cancer patients. Asian Pac J Cancer Prev 2014; 15(12): 4839-42.
14. Nishimura R, Osako T, Okumura Y, Hayashi M, Toyozumi Y, Arima N. Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer subtype and a predictor of recurrence time in primary breast cancer. Exp Ther Med 2010; 1(5): 747-54.
15. Jurikova M, Danihel L, Polak S, Varga I. Ki67, PCNA, and MCM proteins: Markers of proliferation in the diagnosis of breast cancer. Acta Histochem 2016; 118(5): 544-52.
16. Fallahzadeh H, Mohammadzadeh M, PahlavanV, Pahlavani N. A study on the prognostic factors of breast cancer survival time using Bayesian Cox model. J Isfahan Med Sch 2018; 36(466): 49-55. [In Persian].
17. Savci-Heijink CD, Halfwerk H, Hooijer GK, Horlings HM, Wesseling J, van de Vijver MJ. Retrospective analysis of metastatic behaviour of breast cancer subtypes. Breast Cancer Res Treat 2015; 150(3): 547-57.
18. Saadatmand S, Bretveld R, Siesling S, Tilanus-Linthorst MM. Influence of tumour stage at breast cancer detection on survival in modern times: Population based study in 173,797 patients. BMJ 2015; 351: h4901.
19. Unni N, Sudhan DR, Arteaga CL. Neratinib: Inching Up on the Cure Rate of HER2(+) Breast Cancer? Clin Cancer Res 2018; 24(15): 3483-5.
20. Vostakolaei FA, Broeders MJ, Rostami N, van Dijck JA, Feuth T, Kiemeney LA, et al. Age at diagnosis and breast cancer survival in Iran. Int J Breast Cancer 2012; 2012: 517976.
21. Candido Dos Reis FJ, Wishart GC, Dicks EM, Greenberg D, Rashbass J, Schmidt MK, et al. An updated PREDICT breast cancer prognostication and treatment benefit prediction model with independent validation. Breast Cancer Res 2017; 19(1): 58.
22. Jafari-Koshki T, Mansourian M, Mokarian F. Exploring factors related to metastasis free survival in breast cancer patients using Bayesian cure models. Asian Pac J Cancer Prev 2014; 15(22): 9673-8.
23. Ibrahim JG, Chen MH, Sinha D. Bayesian survival analysis. In: Balakrishnan N, Colton T, Everitt B, Piegorsch W, Ruggeri F, Teugels JL, editors. Wiley StatsRef: Statistics Reference Online. Hoboken, NJ: Willey; 2014.

DOI: *10.22122/jims.v37i542.12150* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 37, No. 542, 2nd Week, November 2019**

Received: 23.05.2019 Accepted: 26.09.2019 Published: 30.10.2019

The Effect of Tumor Markers ER, Her2, and Ki67 on Long-Term and Short-Term Survival of Women with Breast Cancer Using Bayesian Cure Model

Morteza Mohammadzadeh[1], Hossein Fallahzadeh[2], Nima Pahlavani[3], Fariba Binesh[4], Vida Pahlavani[1]

Original Article

Abstract

Background: Breast cancer is the second leading cause of death from cancer among women, and many factors are involved in its creation. The purpose of this study was to evaluate the effect of tumor markers on the survival of women with this cancer using Bayesian cure analysis.

Methods: This was a population-based cohort study on 500 women with breast cancer registered in Shahid Ramazanzadeh hospital, Yazd City, Iran, from the April 2010 until March 2015, using Kaplan-Meier method and Bayesian cure model. The data were analyzed using R software. $P < 0.050$ was considered as the significance level.

Findings: Based on Kaplan-Meier method, the 6-year cumulative survival for patients with breast cancer was 0.737. The mean age of breast cancer diagnosis was 48.03 ± 11.16 years, and the mean survival period was 97.64 ± 4.23 months. Bayesian cure model showed that Ki67 [hazard ratio (HR) = 1.34, 95% prediction interval (PI): 1.01-2.28] and ER (HR = 2.11, PI 95%: 1.99-2.36) were significantly related to hazard, and ER was significantly related to cure (OR = 0.38, PI 95%: 0.26-0.57).

Conclusion: According to Bayesian cure analysis in this study, ER variable is also effective on short-term survival and long-term survival of patients. Cure models have the ability to analyze patients' survival data, and can differentiate long-term survival from short- term survival. The interpretation of survival data with these statistical models could be more accurate.

Keywords: Breast cancer, Survival analysis, Bayesian method, Estrogen receptors

Citation: Mohammadzadeh M, Fallahzadeh H, Pahlavani N, Binesh F, Pahlavani V. **The Effect of Tumor Markers ER, Her2, and Ki67 on Long-Term and Short-Term Survival of Women with Breast Cancer Using Bayesian Cure Model.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(542): 1074-9.

1- PhD Student, Department of Biostatistics, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2- Professor, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
3- Student of Medicine, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
4- Assistant Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
Corresponding Author: Vida Pahlavani, Email: vida.pahlevani@gmail.com

Editorial Board (In alphabetical order)

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

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 37, No. 542, 2nd Week November 2019

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman**: Saied Morteza Heidari MD** Emerita Editor-in-Chief**: Roya Kelishadi MD**

Editor-in-Chief**: Reza Khadivi MD**

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

Office:
P.O. Box 81744-176, Isfahan, Iran
Tel/fax: +98 31 37922291
Email: jims@med.mui.ac.ir
Website: http://jims.mui.ac.ir
Executive Manager: Ali Moradi, Office Secretary: Golnaz Rajabi

Publisher:

Vesnu Publications

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

Tel/fax: +98 31 32224382
Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexers

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

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

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