

### مقاله های پژوهشی

- ۳۷۰-miR در سرطان پستان ..... ۹۲۴  
حلیمه ملایی نژاد، دکتر ناهید اسکندری، دکتر عباسعلی پور آذر، دکتر علیرضا عندلیب، دکتر منصور صالحی، دکتر مزدک گنجعلی خانی حاکمی
- بررسی اثر پروفیلاکسی و درمانی ال-آرژنین در پیش گیری از نفروتوکسیسیته ناشی از سیس پلاتین در رت: نقش تفاوت جنسیت ..... ۹۳۲  
معظمه میمندی نیا، رویا امیری، فاطمه اشراقی جزی، دکتر اردشیر طالبی، دکتر مهدی نعمت بخش
- اثرات راهبردهای درمانی و اطلاعات دموگرافیکی روی احتمال عوارض بافت های طبیعی در رادیوتراپی سر و گردن از طریق مدل Lyman ..... ۹۴۵  
دکتر نصراله جباری، سیدرضا موسوی، دکتر امید اثنا عشری، مهدی اقدسی، دکتر حمیدرضا خلخالی
- بهبود سازی پارامترهای درمان تومورهای سارکومای بافت نرم به روش الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر ..... ۹۵۵  
کریم قاضی خانلو ثانی، دکتر سید محمد فیروز آبادی، دکتر لیلا آقاقریبی، دکتر حبیب اله محمودزاده

### مقاله مروری

- مروری بر کاربرد پلاسمای غنی از پلاکت در ریزش و پیوند مو ..... ۹۷۰  
دکتر فریبا جعفری، دکتر محمدعلی نیلفروش زاده، دکتر الهه هفت برادران

### Original Articles

- miR-370 Expression Analysis in Breast Cancer ..... 931  
Halimeh Mollainezhad, Nahid Eskandari PhD, Abbasali Pourazar PhD, Alireza Andalib PhD, Mansoor Salehi PhD, Mazdak Ganjalikhani-Hakemi PhD
- The Evaluation of L-arginine Prophylaxis and Treatment on Preventing Nephrotoxicity Cisplatin-Induced in Rat: Role of Gender Difference ..... 944  
Moazzameh Meimandinia, Roya Amiri, Fatemeh Eshraghi-Jazi, Ardeshir Talebi MD, Mehdi Nematbakhsh PhD
- Effects of Treatment Strategies and Demographic Characteristics on Normal Tissue Complication Probability in Head and Neck Radiotherapy Using the Lyman Model ..... 954  
Nasrollah Jabbari PhD, Seyed Reza Mousavi, Omid Esnaashari MD, Mehdi Aghdasi MSc, Hamid Reza Khalkhali PhD
- Optimizing the Parameters of Soft Tissue Sarcoma Tumors in Irreversible Electroporation Treatment Method ..... 969  
Karim Ghazikhanlou-Sani MSc, Seyed Mohammad Firoozabadi PhD, Leila Aghaghazvini PhD, Habibollah Mahmoudzadeh MD

### Review Article

- Review on Using Platelet Rich Plasma in Hair Loss and Hair Transplantation ..... 982  
Fariba Jaffary MD, Mohammad Ali Nilforoushzadeh MD, Elaheh Haftbaradaran MD



## مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و سوم، شماره (۳۳۹)، بهمن‌موم مرداد ۱۳۹۴

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

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

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

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

## راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

#### **اگر منبع مورد نظر مقاله است:**

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

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

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

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

#### **اگر منبع مورد نظر کتاب است:**

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

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

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

#### **اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:**

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

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

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

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

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

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

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

## فهرست مطالب

### مقاله‌های پژوهشی

- ۳۷۰-miR در سرطان پستان..... ۹۲۴  
حلیمه ملایی‌نژاد، دکتر ناهید اسکندری، دکتر عباسعلی پورآذر، دکتر علیرضا عندلیب، دکتر منصور صالحی، دکتر مزدک گنجعلی خانی حاکمی
- ۹۳۲.....  
بررسی اثر پروفیلاکسی و درمانی ال- آرژنین در پیش‌گیری از نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین در رت: نقش تفاوت جنسیت  
معظمه میمندی‌نیا، رویا امیری، فاطمه اشراقی جزی، دکتر اردشیر طالبی، دکتر مهدی نعمت‌بخش
- ۹۴۵.....  
اثرات راهبردهای درمانی و اطلاعات دموگرافیکی روی احتمال عوارض بافت‌های طبیعی در رادیوتراپی سر و گردن از طریق مدل Lyman  
دکتر نصراله جباری، سیدرضا موسوی، دکتر امید اثناعشری، مهدی اقدسی، دکتر حمیدرضا خلخالی
- ۹۵۵.....  
بهینه‌سازی پارامترهای درمان تومورهای سارکومای بافت نرم به روش الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر.....  
کریم قاضی‌خانلو ثانی، دکتر سید محمد فیروزآبادی، دکتر لیلا آقاروینی، دکتر حبیب اله محمودزاده

### مقاله مروری

- ۹۷۰.....  
مروری بر کاربرد پلاسمای غنی از پلاکت در ریزش و پیوند مو.....  
دکتر فریبا جعفری، دکتر محمدعلی نیلفروش‌زاده، دکتر الهه هفت برادران

## miR-۳۷۰ در سرطان پستان

حلیمه ملایی نژاد<sup>۱</sup>، دکتر ناهید اسکندری<sup>۲</sup>، دکتر عباسعلی پورآذر<sup>۳</sup>، دکتر علیرضا عندلیب<sup>۴</sup>،  
دکتر منصور صالحی<sup>۴</sup>، دکتر مزدک گنجعلی خانی حاکمی<sup>۵</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** MicroRNA (miRNA یا miR) ها ۲۴-۱۸ نوکلئوتید دارند و بیان بعضی از آن‌ها در بین بافت طبیعی و سرطانی تفاوت‌هایی دارد. در این مطالعه، بیان miR-۳۷۰ را در مراحل (Stages) و درجات (Grades) مختلف بافت سرطان پستان انسان در مقایسه با بافت سالم مجاور آن مورد بررسی قرار گرفت.

**روش‌ها:** مطالعه‌ی مورد-شاهدی حاضر، بر روی ۲۲ نمونه‌ی بافت گرفته شده از افراد سالم و بیماران مبتلا به سرطان پستان انجام شد و بیان miR-۳۷۰ را به روش Quantitative real-time PCR (Quantitative real-time polymerase chain reaction) مورد بررسی قرار داد.

**یافته‌ها:** نسبت بیان miR-۳۷۰ در بافت توموری، در مقایسه با بافت سالم مجاور آن ( $P = ۰/۰۱۱$ ) و همچنین، نمونه‌هایی که سرطان آن‌ها در مرحله‌ی III ( $P = ۰/۰۰۴$ ) یا درجه‌ی ۳ ( $P = ۰/۰۰۱$ ) بودند، نسبت به سایر مراحل، افزایش معنی‌داری نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به بررسی بیان miR-۳۷۰ در مراحل و درجات مختلف و ارتباط آن با مراحل بالینی وخیم‌تر و پیشرفته‌تر تومور، می‌توان این miRNA را به احتمال یک OncomiRNA در سرطان پستان به حساب آورد و یا به عبارت دیگر، شاید بتوان آن را به عنوان یک شاخص پیش‌آگهی یا ابزار درمانی در سرطان پستان مطرح نمود.

**واژگان کلیدی:** MicroRNAs، سرطان پستان، Quantitative real-time polymerase chain reaction

**ارجاع:** ملایی نژاد حلیمه، اسکندری ناهید، پورآذر عباسعلی، عندلیب علیرضا، صالحی منصور، گنجعلی خانی حاکمی مزدک. miR-۳۷۰ در سرطان پستان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۳۹): ۹۳۱-۹۲۴

## مقدمه

(۱). بر اساس مطالعات و نتایج به دست آمده در امریکا، سرطان پستان زنان و سرطان پروستات مردان، در میان انواع سرطان‌ها، بالاترین موارد جدید ابتلا به سرطان را به خود اختصاص می‌دهند (۲). علاوه بر این، سرطان پستان پس از سرطان ریه و مجاری

سرطان به نوعی از بیماری اطلاق می‌شود که در آن، گروهی از سلول‌ها رشد غیر قابل کنترل پیدا می‌یابند و به بافت‌های مجاور حمله می‌کنند و گاهی نیز از طریق خون و یا لنف، به نواحی دیگر بدن منتقل می‌گردند

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استاد، گروه ژنتیک و زیست‌شناسی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران



بافت سالم و همچنین، بین مراحل و درجات مختلف سرطان سینه تفاوت‌هایی وجود دارد (۱۴-۱۱).

عوامل نسخه‌برداری پیش التهابی مثل NF-kB (Nuclear factor kappa B)، STAT3، Signal transducer and activator of transcription 3) و microRNAها اغلب در یک شبکه‌ی تنظیمی با هم همکاری می‌کنند و التهاب را به سرطان پیوند می‌دهند (۱۰). در مطالعات اخیر، miR-370 به عنوان یکی از عوامل مهم در سندروم‌های التهابی و تغییرات سلولی-مولکولی مورد بررسی قرار گرفته است. miR-370 به طور مستقیم MAP3K8 و LIN28A را هدف قرار می‌دهد (۱۵، ۱۰) و از این طریق، مسیر NF-kB فعال می‌شود و باعث افزایش تنظیم ژن‌های هدف آن مانند MMP2 (Matrix metalloproteinases 2)، MMP9، کموکاین‌ها و سایتوکاین‌های درگیر در رگ‌زایی و التهاب (مانند Vascular endothelial growth factor یا VEGF، IL-8 یا IL-8، Interleukin-6 یا IL-6، Tumor necrosis factor alpha یا TNF $\alpha$ ) و ژن‌های درگیر در چرخه‌ی سلولی Cyclin D1، D2، D3، و E که در تهاجم و متاستاز نقش دارند، می‌شود (۱۳-۱۲).

miR-370 در فرایندهای زیستی متعددی مشارکت دارد، اما نقش آن در سرطان‌های بدخیم ضد و نقیض شناخته شده است؛ نقش miR-370 به عنوان مهار کننده‌ی توموری در کارسینومای پاپیلاری تیروئید، سرطان کلورکتال (۱۶)، کارسینومای سلول‌های سنگفرشی دهان (۱۷) و بدخیمی‌های کولانژیوسیت‌ها ثابت شده است (۱۸، ۱۵) و بر عکس، شواهد قابل توجهی افزایش بیان miR-370 را در سرطان‌های معده،

تنفسی، دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در میان زنان را به خود اختصاص می‌دهد (۳).

مطالعات انجام شده، نشان می‌دهد که مبتلایان به سرطان پستان در کشورهای در حال توسعه رو به افزایش (۳-۴ درصد) است. در ایران، سرطان سینه نیز یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها است که حدود ۲۱/۴ درصد از جمعیت زنان را درگیر کرده است (۴).

مطالعات متعدد نشان داده است که RNAهای کوچک کد نشده‌ی ۱۸-۲۴ نوکلئوتیدی (microRNAs یا miR)، مولکول‌های بسیار حفظ شده‌ای هستند که اعمال تنظیم ژن‌ها را پس از نسخه‌برداری از طریق مهار ترجمه یا شکستن RNA پیامبر (mRNA یا Messenger RNA) هدف، به واسطه‌ی شناسایی ناحیه‌ی 3'UTR انجام می‌دهند (۵). بیان و اختلال در فعالیت این miRNAها می‌تواند منجر به مشکلات و بیماری‌های مختلفی در بدن شود که از مهم‌ترین آن‌ها سرطان است. در سرطان، miRNAها می‌توانند اثر مهار کنندگی تومور (Tumor suppressors) و یا سرطان‌زایی و هم‌افزایی (Oncomir) داشته باشند. افزایش بیان Oncomirها منجر به کاهش شدید mRNAهای سرکوبگر تومور می‌شود؛ حال آن که کاهش بیان miRNAهای سرکوبگر تومور، باعث افزایش پایداری و فعالیت mRNAهای ژن‌های انکوژن می‌گردد که روی هم رفته، این دو فعل و انفعال سلولی-مولکولی، منجر به افزایش رشد و تشکیل تومور می‌شوند (۹-۶).

مطالعات قبلی، نقش miRNAهای مختلف را به عنوان سرکوبگر تومور یا Oncomir در سرطان پستان نشان داده‌اند (۹-۱۰). علاوه بر این، گزارش شده است که میزان بیان miRNA بین بافت سرطانی در مقایسه با

انجام شد. سپس، RNAها در دمای 80- درجه‌ی سانتی‌گراد به منظور انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری گردیدند.

سنتز cDNA به روش پلی A پلیمرز با استفاده از 1/5 میکروگرم RNA استخراج شده و کیت miR-Amp kit صورت گرفت. در نهایت، با استفاده از روش Quantitative real-time PCR (Quantitative real-time polymerase chain reaction) به کمک پرایمرهای آماده‌ی شرکت پارس ژنوم و با به کارگیری کیت RT-PCR SYBER Green (پارس ژنوم، ایران) صورت پذیرفت. میزان بیان miR-370 برای هر نمونه به صورت سه‌تایی (Triplicate) در دستگاه ABI7000 (Applied biosystems, USA) اندازه‌گیری شد. در نهایت، بیان miR-370 در برابر ژن rRNA 5s بهینه‌سازی گردید (22).

نسبت بیان miR-370 در نمونه‌ی مبتلا به تومور در مقایسه با نمونه‌ی سالم مجاور تومور با نرم‌افزار REST 2.0.9 (نسخه‌ی 2/0/13 کیازن) تعیین شد.  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

بررسی بیان miR-370 به روش qRT-PCR بر روی 22 نمونه‌ی بافت (بیمار و سالم) گرفته شده از بیماران مبتلا به تومور پستان و افراد سالم انجام شد. برای اطمینان از توزیع استاندارد میزان بیان، از ژن rRNA 5s به عنوان یک ژن اندوژن استفاده شد (22). تمام بیماران مورد مطالعه، دارای میانگین سنی  $46/9 \pm 11/2$  سال بودند. تمام اطلاعات دموگرافیک بیماران در جدول 1 آمده است. بیان miR-370 در وضعیت‌های بالینی و

پروستات و لوکمی میلوئیدی حاد و در مراحل پیشرفته‌ی این سرطان‌ها نشان داده‌اند که منجر به سرعت بخشیدن بدخیمی می‌شود (21-19).

تا کنون، نقش miR-370 در سرطان پستان بررسی نشده است؛ بنابراین، در مطالعه‌ی حاضر، به منظور یافتن نشانگرهای زیستی احتمالی جهت تعیین وضعیت تومور پستان، بیان miR-370 در مراحل (Stages) و درجات (Grades) مختلف بافت مبتلا به سرطان پستان انسان در مقایسه با بافت سالم مجاور آن، مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت.

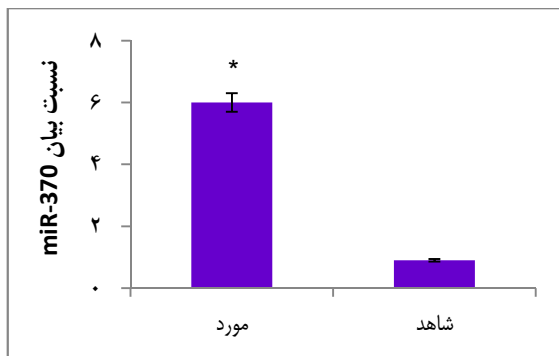
#### روش‌ها

مطالعه‌ی مورد-شاهدی بر روی 22 نمونه‌ی بافت تازه‌ی سرطان پستان (بافت مبتلا به تومور و بافت سالم مجاور آن) تهیه شده از بانک بافت‌های توموری ایران در سال 1392 انجام شد.

بیماران مورد مطالعه، تحت عمل جراحی، شیمی‌درمانی و یا رادیوتراپی نبودند و اطلاعات ضروری مثل سن، وضعیت یائسگی، سابقه‌ی ابتلای بستگان به سرطان، مصرف دارو و شیمی‌درمانی، سابقه‌ی بالینی و داده‌های هیستوپاتولوژیک از پرونده‌ی پزشکی و گزارش‌های پاتولوژی بیماران استخراج شد. پیش از شروع این مطالعه، کلیات طرح توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد تأیید و تصویب قرار گرفت.

استخراج microRNAها از 50 میلی‌گرم بافت با استفاده از کیت Hybrid-R™ miRNA kit (GeneAll®, Korea) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. اندازه‌گیری غلظت RNAها توسط دستگاه نانو دراپ (NANO SPEC CUBE biophotometer, German)

که در مرحله‌ی بالینی ۱ و یا ۲ قرار داشت؛ این افزایش بیان معنی‌دار به نظر نمی‌رسید ( $P = 0/297$ ). همچنین، بررسی بیان miR-370 در نمونه‌های توموری با درجات (Grades) مختلف در مقایسه با بافت طبیعی، افزایش بیان را نشان داد که این افزایش، در نوع درجه‌ی ۱، ۱/۱۳، در نوع درجه‌ی ۲، ۴/۰۱ و در نوع درجه‌ی ۳، ۲۳/۰۰ بود. البته، تنها در نوع درجه‌ی ۳، این افزایش بیان به صورت معنی‌دار ( $P = 0/001$ ) نشان داده شد. تمام تومورها از نظر اندازه به دو گروه  $2 \leq$  و  $2 >$  سانتی‌متر تقسیم شدند. بر این اساس، افزایش بیان miR-370 با اندازه‌ی بزرگ‌تر تومور، ارتباط مستقیم داشت ( $P = 0/013$ ) (جدول ۲).



شکل ۱. نسبت بیان miR-370 در نمونه‌ی تومور درجه‌ی ۳ در مقایسه با افراد شاهد. بیان miR-370 در برابر ژن *5srRNA* بهینه‌سازی گردید ( $P < 0/050^*$ ).

پاتولوژیک مورد بررسی قرار گرفت. بیان miR-370 در بافت‌های مبتلا به تومور در مقایسه با بافت سالم مجاور آن، افزایش بیان را به صورت معنی‌دار نشان داد ( $P = 0/011$ ).

جدول ۱. مشخصات دموگرافیک بیماران

مشخصات دموگرافیک	تعداد (درصد)
سن (سال)	
میانگین	۴۶/۹
محدوده‌ی سنی	۳۲-۷۷
وضعیت یائسگی	
بعد	۶ (۲۷/۳)
قبل	۱۶ (۷۲/۷)
سابقه‌ی خانوادگی	
منفی	۱۰ (۴۵/۵)
مثبت	۱۲ (۵۴/۵)

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، بیان miR-370 در نمونه‌های مبتلا به تومور، نسبت به گروه شاهد (بافت‌های سالم)  $6/02$  برابر افزایش نشان داد. از طرف دیگر، با در نظر گرفتن مرحله‌ی بالینی تومور، نمونه‌هایی که در Stage III قرار داشتند، با نسبت بیان  $171/73$  افزایش بیان را به صورت معنی‌دار نشان دادند ( $P = 0/004$ ). در مقابل، با وجود افزایش بیان ژن در تومورهایی

جدول ۲. نسبت بیان miR-370 در گروه‌بندی با توجه به شاخص‌های کلینیک و پاتولوژیک تومور

ویژگی‌های کلینیک و پاتولوژیک	تعداد (درصد)	نسبت بیان miR-370	مقدار P
مرحله‌ی بالینی سرطان (Stage)			
I	۵ (۲۲/۷۲)	۳/۶۴	۰/۴۴۰
II	۱۲ (۵۴/۵۴)	۱/۸۳	۰/۴۳۰
III	۵ (۲۲/۷۲)	۱۷۱/۷۳	۰/۰۰۴
درجه‌ی تومور (Grade)			
۱	۴ (۱۸/۱۸)	۱/۱۳	۰/۹۶۰
۲	۱۰ (۴۵/۴۵)	۴/۰۱	۰/۱۹۰
۳	۸ (۳۶/۳۶)	۲۳/۰۰	۰/۰۰۱
اندازه‌ی تومور (سانتی‌متر)			
$\leq 2$	۲ (۹/۰۹)	۸/۰۵۶	۰/۱۸۰
$> 2$	۲۰ (۹۰/۹۱)	۵/۵۸	۰/۰۱۳

DCIS: Ductal carcinoma in situ; IDC: Invasive ductal carcinoma

## بحث

سرطان یکی از مهم‌ترین معضلات سلامت عمومی در جهان است (۲) و ارتباط بسیاری از miRNAها با برخی از انواع سرطان شناسایی شده است. بیان تنظیم نشده‌ی microRNA در بسیاری از سرطان‌ها ثابت شده است. بنابراین، در سال‌های اخیر، پژوهشگران تمایل به بررسی پروفایل miRNAها در بافت‌های مبتلا به تومور داشته‌اند (۱۳). نقش متضاد miR-370 در سرطان‌های مختلف نشان داده شده است؛ اما نقش آن در سرطان پستان (به عنوان سرطان‌زایی Oncomir و یا مهار کنندگی تومور) بررسی نشده است. به منظور بررسی بیان متفاوت miR-370 در مراحل (Stages) و درجات (Grades) مختلف در بافت مبتلا به سرطان پستان نسبت به بافت سالم، الگوی بیان miR-370 در ۲۲ نمونه‌ی بافت مبتلا به سرطان پستان انسان در مقایسه با بافت سالم مجاور آن، با روش qRT-PCR مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. در مطالعه‌ی حاضر مشاهده شد که میانگین سنی بیماران مبتلا به سرطان پستان در ایران (میانگین ۱۱/۲ ± ۴۶/۹ سال) در مقایسه با میانگین سنی جهان (برای مثال در کشور ایالات متحده‌ی آمریکا با میانگین سنی ۶۴ سال، چین با ۴۸-۵۰ سال و ...) پایین‌تر بود که این یافته، با نتایج مطالعات پیشین همسو بود (۲۳-۲۴).

علاوه بر این، افزایش بیان شش برابری در نمونه‌های مبتلا به تومور در مقایسه با نمونه‌های شاهد، دیده شد (شکل ۱). نتایج مطالعه‌ی حاضر، هم‌راستا با یافته‌های پیشین در تعدادی از بدخیمی‌ها مثل سرطان پروستات، سرطان معده، لوکمی میلوئیدی حاد و تومور ویلمز بود که در این مطالعات نیز

miR-370 افزایش بیان دارد و به عنوان یک Oncomir عمل می‌کند (۲۵، ۲۱-۹). از طرفی، با توجه به شاخص‌های کلینیک و پاتولوژیک نمونه‌ها شامل مرحله‌ی بالینی، درجه و اندازه‌ی تومور، در تومورهای با اندازه‌ی بزرگ‌تر، مرحله‌ی بالینی پیشرفته‌تر (Stage III) و درجه‌ی بالاتر (Grade ۳) افزایش بیان قابل توجهی دیده شد. شواهد پیشین در سرطان‌های دیگر نشان داده‌اند که افزایش بیان miR-370 با مراحل بالینی وخیم‌تر و پیشرفت تومور مرتبط است (۲۵، ۲۱-۱۹). بنابراین، به علت ارتباط افزایش بیان miR-370 با فنوتیپ پیشرفته‌تر و تهاجمی‌تر بیماری، می‌توان این miRNA را به احتمال یک Oncomir به حساب آورد. هر چند که مطالعاتی نیز کاهش بیان miR-370 را در بدخیمی‌هایی مانند هیپاتوسلولار کارسینوما، کولانژیو کارسینوما، رده‌ی سلولی سرطانی کلورکتال، رده‌ی سلولی مشتق از تومور (Central nervous system) CNS و کارسینوما‌ی سلول‌های سنگفرشی دهان گزارش کرده‌اند (۲۷-۲۶، ۱۸-۱۵).

اهداف miR-370 شامل MAP3K8 و WNT10B (در کولانژیو کارسینوما انسانی) (۱۸، ۱۵)، FOXO1 (سرطان پروستات) (۱۸)، (تومور ویلمز یا Wilms' tumor) (۲۵)، TGFβRII (Transforming growth factor beta receptor II) در سرطان معده (۲۰)، Insulin receptor substrate ۱ (IRS1) در کارسینوما‌ی سلول‌های سنگفرشی دهان (۱۷)، NF1 (Neurofibromatosis ۱) و FoxM1 (Forkhead box ۱) در لوکمی میلوئیدی حاد (۲۸، ۱۹)، BAX (BCL2-associated X protein) و AKT1 یا PKB (Protein kinase B) (در سرطانی

miR-370 در پیشرفت سرطان سینه و همچنین، از آن به عنوان نشانگر تشخیصی و یا پیش‌آگهی مورد استفاده قرار گیرد.

علاوه بر این، برای تعیین پتانسیل استفاده از miR-370 به عنوان ابزاری مؤثر در درمان سرطان پستان، شناسایی مولکول‌های هدف پایین دست این miRNA، بررسی اثرات تداخلی مولکولی آن در مسیرهای انتقال پیام و هدف قرار دادن آن‌ها در شرایط بدن (In vivo) باید مطالعات بیشتری انجام گیرد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد حلیمه ملایی نژاد به شماره‌ی ۳۹۲۴۵۰ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

از آقای محمد کاظمی (گروه زیست‌شناسی مولکولی و ژنتیک دانشگاه علوم پزشکی اصفهان) به خاطر پشتیبانی فنی و کارکنان آزمایشگاه مرکزی (دانشگاه علوم پزشکی اصفهان) جهت همکاری صمیمانه در انجام پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

کلورکتال (۱۶) در مطالعات پیشین گزارش شده‌اند که این اهداف miR-370، در پیشرفت یا جلوگیری از سرطان نقش دارند؛ تعدادی از آن‌ها به عنوان سرکوبگر تومور و تعدادی نیز به عنوان انکوژن عمل می‌کنند. بنابراین، اثرات ضد و نقیض miR-370 در بدخیمی‌ها ممکن است به علت توانایی این miR-370 در تنظیم بیان ژن‌های هدف متفاوت با عملکردهای متفاوت باشد که نتیجه‌ی نهایی، بستگی به زمینه‌ی سلولی مختلف دارد.

در مجموع، مطالعه‌ی حاضر افزایش بیان miR-370 را در سرطان پستان نشان می‌دهد. نقش Oncomir و سطوح بیان بالاتر miR-370 در مراحل پیشرفته‌تر سرطان پستان (درجه‌ی ۳ و مرحله‌ی III) می‌تواند پیشنهاد کننده‌ی دخالت این miRNA در پاتولوژی سرطان پستان باشد. اندازه‌گیری miR-370 و ارتباط آن با مرحله‌ی تومور، ممکن است به عنوان یک نشانگر زیستی پیش‌آگهی مورد توجه قرار گیرد. البته انجام مطالعات بیشتر با حجم نمونه‌های بزرگ‌تر ضروری است تا بتوان شواهد بیشتری در مورد نقش

### References

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58(2): 71-96.
2. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63(1): 11-30.
3. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins basic pathology. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2013.
4. Noroozi A, Jomand T, Tahmasebi R. Determinants of breast self-examination performance among Iranian women: an application of the health belief model. *J Cancer Educ* 2011; 26(2): 365-74.
5. Turnpenny PD. Emery's elements of medical genetics. 13<sup>th</sup> ed. London, UK: Churchill Livingstone; 2007. p. 192-215.
6. Hammond SM. MicroRNAs as oncogenes. *Curr Opin Genet Dev* 2006; 16(1): 4-9.
7. Kent OA, Mendell JT. A small piece in the cancer puzzle: microRNAs as tumor suppressors and oncogenes. *Oncogene* 2006; 25(46): 6188-96.
8. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? *Cancer Metastasis Rev* 2009; 28(3-4): 369-78.
9. Wang B, Wang H, Yang Z. MiR-122 inhibits cell proliferation and tumorigenesis of breast cancer by targeting IGF1R. *PLoS One* 2012; 7(10): e47053.
10. Wu ZS, Wu Q, Wang CQ, Wang XN, Huang J, Zhao JJ, et al. miR-340 inhibition of breast cancer cell migration and invasion through targeting of oncoprotein c-Met. *Cancer* 2011; 117(13): 2842-52.

11. Blenkiron C, Goldstein LD, Thorne NP, Spiteri I, Chin SF, Dunning MJ, et al. MicroRNA expression profiling of human breast cancer identifies new markers of tumor subtype. *Genome Biol* 2007; 8(10): R214.
12. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005; 65(16): 7065-70.
13. Lowery AJ, Miller N, Devaney A, McNeill RE, Davoren PA, Lemetre C, et al. MicroRNA signatures predict oestrogen receptor, progesterone receptor and HER2/neu receptor status in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2009; 11(3): R27.
14. Yan LX, Huang XF, Shao Q, Huang MY, Deng L, Wu QL, et al. MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis. *RNA* 2008; 14(11): 2348-60.
15. An F, Yamanaka S, Allen S, Roberts LR, Gores GJ, Pawlik TM, et al. Silencing of miR-370 in human cholangiocarcinoma by allelic loss and interleukin-6 induced maternal to paternal epigenotype switch. *PLoS One* 2012; 7(10): e45606.
16. Bandres E, Cubedo E, Agirre X, Malumbres R, Zarate R, Ramirez N, et al. Identification by Real-time PCR of 13 mature microRNAs differentially expressed in colorectal cancer and non-tumoral tissues. *Mol Cancer* 2006; 5: 29.
17. Chang KW, Chu TH, Gong NR, Chiang WF, Yang CC, Liu CJ, et al. miR-370 modulates insulin receptor substrate-1 expression and inhibits the tumor phenotypes of oral carcinoma. *Oral Dis* 2013; 19(6): 611-9.
18. Meng F, Wehbe-Janek H, Henson R, Smith H, Patel T. Epigenetic regulation of microRNA-370 by interleukin-6 in malignant human cholangiocytes. *Oncogene* 2008; 27(3): 378-86.
19. Garcia-Orti L, Cristobal I, Cirauqui C, Gुरुceaga E, Marcotegui N, Calasanz MJ, et al. Integration of SNP and mRNA arrays with microRNA profiling reveals that MiR-370 is upregulated and targets NF1 in acute myeloid leukemia. *PLoS One* 2012; 7(10): e47717.
20. Lo SS, Hung PS, Chen JH, Tu HF, Fang WL, Chen CY, et al. Overexpression of miR-370 and downregulation of its novel target TGFbeta-RII contribute to the progression of gastric carcinoma. *Oncogene* 2012; 31(2): 226-37.
21. Wu Z, Sun H, Zeng W, He J, Mao X. Upregulation of MicroRNA-370 induces proliferation in human prostate cancer cells by downregulating the transcription factor FOXO1. *PLoS One* 2012; 7(9): e45825.
22. Lardizabal MN, Nocito AL, Daniele SM, Ornella LA, Palatnik JF, Veggi LM. Reference genes for real-time PCR quantification of microRNAs and messenger RNAs in rat models of hepatotoxicity. *PLoS One* 2012; 7(5): e36323.
23. Fan L, Strasser-Weippl K, Li JJ, St LJ, Finkelstein DM, Yu KD, et al. Breast cancer in China. *Lancet Oncol* 2014; 15(7): e279-e289.
24. Movahedi M, Haghghat S, Khayamzadeh M, Moradi A, Ghanbari-Motlagh A, Mirzaei H, et al. Survival rate of breast cancer based on geographical variation in Iran, a national study. *Iran Red Crescent Med J* 2012; 14(12): 798-804.
25. Cao X, Liu D, Yan X, Zhang Y, Yuan L, Zhang T, et al. Stat3 inhibits WTX expression through up-regulation of microRNA-370 in Wilms tumor. *FEBS Lett* 2013; 587(6): 639-44.
26. Gaur A, Jewell DA, Liang Y, Ridzon D, Moore JH, Chen C, et al. Characterization of microRNA expression levels and their biological correlates in human cancer cell lines. *Cancer Res* 2007; 67(6): 2456-68.
27. Xu WP, Yi M, Li QQ, Zhou WP, Cong WM, Yang Y, et al. Perturbation of MicroRNA-370/Lin-28 homolog A/nuclear factor kappa B regulatory circuit contributes to the development of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2013; 58(6): 1977-91.
28. Zhang X, Zeng J, Zhou M, Li B, Zhang Y, Huang T, et al. The tumor suppressive role of miRNA-370 by targeting FoxM1 in acute myeloid leukemia. *Mol Cancer* 2012; 11: 56.

## miR-370 Expression Analysis in Breast Cancer

Halimeh Mollainezhad<sup>1</sup>, Nahid Eskandari PhD<sup>2</sup>, Abbasali Pourazar PhD<sup>3</sup>,  
Alireza Andalib PhD<sup>3</sup>, Mansoor Salehi PhD<sup>4</sup>, Mazdak Ganjalikhani-Hakemi PhD<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** MicroRNAs (MiRNAs) are 21-24 nucleotides which have different levels of expression between tumors and normal tissues. In this study, we analyzed the expression level of miR-370 in different stages and grades of human breast cancer tissues compared with adjacent normal tissues.

**Methods:** In this case-control study, the expression of miR-370 on 22 tissue samples (tumor and normal) from patients with breast cancer was investigated via quantitative real-time polymerase chain reaction method.

**Findings:** miR-370 expression showed a significant increase in tumor tissues compared to normal tissues ( $P = 0.001$ ) as well as in cancer tissues at stage III ( $P = 0.004$ ) and grade 3 ( $P = 0.011$ ) than in other stages.

**Conclusion:** According to evaluation of miR-370 expression in different stages and grades and its relation to more advanced tumor stages/grades, it can possibility act as oncomiRNA in breast cancer. It may be suggested as a prognostic biomarker or therapeutic target in breast cancer, too.

**Keywords:** MicroRNAs, Breast cancer, Quantitative real-time polymerase chain reaction

**Citation:** Mollainezhad H, Eskandari N, Pourazar A, Andalib A, Salehi M, Ganjalikhani-Hakemi M. **miR370 Expression Analysis in Breast Cancer.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(339): 924-31

1- MSc Student, Department of Immunology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Immunology, School of Medicine AND Applied Physiology Research Center, Isfahan University of Medical sciences, Isfahan, Iran

3- Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical sciences, Isfahan, Iran

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

5- Assistant Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Nahid Eskandari PhD, Email: nesandari@med.mui.ac.ir

## بررسی اثر پروفیلاکسی و درمانی ال-آرژنین در پیش‌گیری از نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین در رت: نقش تفاوت جنسیت

معظمه میمندی‌نیا<sup>۱</sup>، رویا امیری<sup>۱</sup>، فاطمه اشراقی جزی<sup>۱</sup>، دکتر اردشیر طالبی<sup>۲</sup>، دکتر مهدی نعمت‌بخش<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** نفروتوکسیسیته از عوارض مهم درمان با سیس‌پلاتین است که ناشی از ایجاد استرس اکسیداتیو می‌باشد. نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین از یک طرف وابسته به جنس است و از طرفی، عامل اصلی برای محدود نمودن درمان با سیس‌پلاتین می‌باشد. از این رو، استفاده از مکمل‌ها برای پیش‌گیری و یا کاهش نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین ضروری است. این مطالعه، با هدف بررسی اثر پروفیلاکسی و درمانی ال-آرژنین در نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین در رت‌های نر و ماده طراحی گردید.

**روش‌ها:** ۱۶ سر رت نر و ۲۰ سر رت ماده از نژاد ویستار به طور تصادفی در ۸ گروه قرار گرفتند. گروه‌های ۱ و ۵ به عنوان گروه‌های شاهد مثبت نر و ماده، سیس‌پلاتین را با دوز روزانه ۲/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت یک هفته دریافت نمودند. گروه‌های ۲ و ۶ به عنوان گروه‌های پروفیلاکسی نر و ماده، ال-آرژنین را با دوز روزانه ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت سه روز دریافت کردند و سپس از روز سوم، سیس‌پلاتین به مدت یک هفته تجویز شد. گروه‌های ۳ و ۷ به عنوان گروه‌های پروفیلاکسی همراه با درمان تحت دریافت ال-آرژنین به مدت سه روز قرار گرفتند و سپس بدون این که تزریق روزانه ال-آرژنین قطع شود، از روز سوم سیس‌پلاتین به مدت یک هفته تزریق شد. گروه‌های ۴ و ۸ به عنوان گروه‌های درمان دریافت روزانه و هم‌زمان سیس‌پلاتین و ال-آرژنین را داشتند. در روز دهم، خون‌گیری انجام شد و کلیه‌ها جهت فرایند بافت‌شناسی آماده گردیدند.

**یافته‌ها:** هیچ یک از روش‌های تجویز ال-آرژنین در جنس ماده تفاوتی را با گروه شاهد مثبت ایجاد نکرد. اما همراه شدن ال-آرژنین با سیس‌پلاتین بدون پروفیلاکسی در جنس نر (گروه ۴) موجب کاهش معنی‌دار سطح سرمی ازت اوره‌ی خون و کراتینین و شدت آسیب بافت کلیوی گردید ( $P < 0/05$ ). وزن کلیه، همچنین در گروه ۴ نسبت به گروه شاهد کاهش داشت؛ هر چند معنی‌دار نبود ( $P = 0/20$ ) که نشانگر کاهش شدت آسیب است. تفاوت معنی‌داری در سطح بافتی نیتريت در بین گروه‌های نر دیده نشد، اما کاهش وزن در بین این گروه‌ها متفاوت بود و گروه‌های دریافت‌کننده ال-آرژنین کاهش وزن بیشتری را نسبت به گروه شاهد مثبت نشان دادند ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** تجویز ال-آرژنین به عنوان پیش‌ساز نیتريك اکسید، هم‌زمان با سیس‌پلاتین می‌تواند موجب کاهش نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین در جنس نر باشد که احتمال می‌رود از طریق اصلاح عملکرد آندوتلیوم که به وسیله‌ی سیس‌پلاتین مختل شده است، می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** سیس‌پلاتین، نفروتوکسیسیته، ال-آرژنین، جنسیت

**ارجاع:** میمندی‌نیا معظمه، امیری رویا، اشراقی جزی فاطمه، طالبی اردشیر، نعمت‌بخش مهدی. بررسی اثر پروفیلاکسی و درمانی ال-آرژنین

در پیش‌گیری از نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین در رت: نقش تفاوت جنسیت. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳

۹۳۲-۹۴۴: (۳۳۹)

۱- دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات آب و الکترولیت و دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات آب و الکترولیت و گروه آسیب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۳- استاد، مرکز تحقیقات آب و الکترولیت و گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و موسسه‌ی تحقیقاتی اصفهان، اصفهان، ایران.

Email: nematbakhsh@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مهدی نعمت‌بخش



## مقدمه

سیس پلاتین از جمله داروهای مؤثر در درمان تومورهای جامد است که در کلینیک به طور معمول با کاهش سطح سرمی منیزیم (۲-۱) و مهم‌تر از آن با عارضه‌ی نفروتوکسیسیتی همراه است (۵-۳). نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین روند درمان تومور را محدود و در حقیقت متوقف می‌کند. بنابراین، پیش‌گیری از نفروتوکسیسیتی در جریان درمان با سیس پلاتین امری ضروری است. سیس پلاتین با تجمع در کلیه (۶) و بیشتر در ناحیه‌ی انتهایی توپول پروگزیمال (قسمت S<sub>3</sub>) (۷) و از طریق تولید استرس اکسیداتیو، آسیب توبولی را ایجاد می‌کند (۹-۸).

بر همین اساس، تلاش بوده است تا از طریق مقابله با استرس اکسیداتیو، نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین کاهش یابد. آنتی‌اکسیدان‌ها در این میان نقش اساسی دارند. گزارش شده است که از یک طرف آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین‌های E (۱۰) و C (۱۱) و از طرف دیگر، عصاره‌های گیاهی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند (۱۳-۱۲)، می‌توانند در کاهش نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین مؤثر باشند. درگیر شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین در اثرگذاری بر نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین نیز بی‌بهره نبوده است. Deegan و همکاران (۱۴) با مهار نمودن گیرنده‌ی آنژیوتانسین II نقش مؤثر لوزارتان را در کاهش نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین نشان دادند. ضمن این که برای لوزارتان خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز مطرح است (۱۵). حقیقی و همکاران اثر لوزارتان را در پیش‌گیری از نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین در دو جنس نر و ماده مقایسه کردند که نتیجه‌ی مثبت مربوط به جنس نر بود (۱۶).

همچنین، گزارش‌های متعددی حاکی از اثربخشی متفاوت سیس پلاتین در ایجاد نفروتوکسیسیتی در دو جنس می‌باشند که وابستگی جنس را مطرح می‌کند و جنس نر در ایجاد نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین شاخص‌تر به نظر می‌رسد (۱۸-۱۷). نعمت‌بخش و همکاران با دو روش متفاوت ایجاد نفروتوکسیسیتی به وسیله‌ی تزریق تک دوز و دوز مداوم سیس پلاتین، نقش جنسیت را در ایجاد نفروتوکسیسیتی نشان دادند (۱۹). نقش هورمون‌های جنسی در وابستگی نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین به جنسیت مطرح است و این در حالی است که دوز فارماکولوژی استرادیول نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین را افزایش می‌دهد (۲۰).

سیستم اکسید نیتریک نیز در نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین مؤثر است. نعمت‌بخش و همکاران به تغییرات سطح سرمی اکسید نیتریک پس از تزریق سیس پلاتین در دو جنس اشاره کردند و نشان دادند که سیس پلاتین موجب افزایش سطح سرمی نیتریک اکسید در جنس نر می‌شود (۲۱).

Saleh و El-Demerdash، با استفاده از ال- آرژنین به عنوان تولیدکننده‌ی اکسید نیتریک و همچنین با استفاده از مهارکننده‌ی اکسید نیتریک نشان دادند که ال- آرژنین در کاهش نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین مؤثر است و از طرف دیگر، مهار اکسید نیتریک با استفاده از L-NAME (L-NG-nitroarginine methyl ester) نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین را تشدید می‌کند (۲۲). همچنین، ال- آرژنین به صورت تک دوز در کاهش نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین در جنس نر مؤثر گزارش شد. در صورتی که در

جنس ماده تأثیر مثبتی مشاهده نگردید (۲۳).  
 ال- آرژنین به عنوان پیش ساز اکسید نیتریک، از جمله موادی است که هیچ گونه عوارض جانبی خاص و یا خطرناکی را برای آن در انسان نمی توان تصور کرد و از این جهت، می تواند یک داروی مکمل مناسب در مواقع ضروری باشد. از طرفی، افزایش اکسید نیتریک در سیستم عروقی، می تواند عامل مؤثری در عملکرد آندوتلیوم باشد (۲۴).

دو سؤال کلی در این جا وجود دارد: اول این که «ال- آرژنین با چه روش استفاده ای می تواند در پیش گیری نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین مؤثر باشد، استفاده به صورت پروفیلاکسی، استفاده همراه با سیس پلاتین و استفاده هم به صورت پروفیلاکسی و هم همراه با سیس پلاتین؟». دوم این که «آیا پاسخ ایجاد و یا مهار نفروتوکسیسیتی ناشی از سیس پلاتین به ال- آرژنین همانند بعضی از مواد دیگر مثل لوزارتان (۱۶) وابسته به جنس است و این که کدام یک از این روش ها می تواند در کدام جنس مؤثر واقع شود؟». در این مطالعه، همچنین از دوز مداوم سیس پلاتین (۲۵-۲۸، ۱۷، ۱۲) به جای تک دوز آن استفاده شد که شاید بتوان گفت که تطبیق بیشتری با کاربرد کلینیکی سیس پلاتین دارد.

### روش ها

۳۶ سر رت هم سن از نژاد ویستار با میانگین وزنی  $206 \pm 4$  گرم شامل ۱۶ سر جنس نر ( $228 \pm 4$ ) و ۲۰ سر جنس ماده ( $185 \pm 3$ ) در ۸ گروه مطالعاتی استفاده شدند. اساس گروه بندی در هر جنس بر این مبنا بود که کدام یک از روش های استفاده از ال- آرژنین (پروفیلاکسی، درمان و یا مخلوطی از دو

روش) هنگام تجویز سیس پلاتین می تواند موجب کاهش نفروتوکسیسیتی شود.

گروه های ۱ و ۵ (که گروه های CP نامیده می شوند)، به عنوان گروه های شاهد مثبت نر و ماده، سیس پلاتین را با دوز روزانه  $2/5$  میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت یک هفته به صورت تزریق صفاقی دریافت نمودند. دوز سیس پلاتین بر اساس مطالعات قبلی (۲۵-۲۸، ۱۷، ۱۲) انتخاب شد.

گروه های ۲ و ۶ (که گروه های CP + LP نامیده می شوند)، به عنوان گروه های پروفیلاکسی نر و ماده، نخست تحت دریافت ال- آرژنین با دوز روزانه  $150$  میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت فقط سه روز قرار گرفتند و از روز سوم، سیس پلاتین به مدت یک هفته همانند گروه های ۱ و ۵ به حیوانات تزریق شد. دوز ال- آرژنین بر اساس مطالعات قبلی (۲۲-۲۳) و تطابق با طراحی مطالعه ای حاضر انتخاب شد.

گروه های ۳ و ۷ (که گروه های CP + LPT نامیده می شوند)، به عنوان گروه های پروفیلاکسی همراه با درمان تحت دریافت ال- آرژنین نر و ماده با دوز روزانه  $150$  میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت سه روز قرار گرفتند و سپس بدون این که تزریق روزانه ای ال- آرژنین تا پایان مطالعه قطع شود، از روز سوم سیس پلاتین به مدت یک هفته همانند گروه های ۱ و ۵ به حیوانات تزریق شد.

گروه های ۴ و ۸ (که گروه های CP + LT نامیده می شوند)، به عنوان گروه های درمان نر و ماده همانند گروه های ۱ و ۵ سیس پلاتین دریافت نمودند و هر روز همراه سیس پلاتین، ال- آرژنین با دوز روزانه  $150$  میلی گرم به ازای هر کیلوگرم تا پایان هفته

تزریق گردید.

گردید.  $P < 0/050$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

حیوانات روزانه وزن می شدند و در پایان مطالعه، با کلرال هیدرات بیهوش و از طریق قلب خون گیری شدند. سپس حیوانات کشته شدند و کلیه‌ی چپ برای مطالعات بافت شناسی و رنگ آمیزی H&E (Hematoxylin and Eosin) در فرمالین قرار گرفت و کلیه‌ی راست جهت هموژنیزه شدن به منظور اندازه گیری سطح بافتی نیتريت استفاده شد. شدت آسیب بافتی توسط پاتولوژیست که به طور کامل به مطالعه آشنا نبود، بر اساس درصد گرفتار بودن بافت، نمره دهی گردید.

سطح سرمی ازت اوره‌ی خون (BUN) یا Blood urea nitrogen (Cr) و کراتینین (Creatinine) با استفاده از کیت آزمایشگاهی پارس آزمون (تهران، ایران) و دستگاه RA-100 اندازه گیری شد. سطح سرمی و بافتی نیتريت (متابولیت پایدار اکسید نیتريك) از روش آزمایشگاهی Greiss reaction در مقایسه با منحنی استاندارد تعیین گردید.

مقایسه‌ی سطح سرمی BUN، Cr و نیتريت و همچنین، سطح بافتی نیتريت و وزن کلیه در بین گروه‌ها در هر جنس، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) یا (One-way analysis of variance) و پس آزمون LSD (Least significant difference) استفاده شد. برای مقایسه‌ی نمره‌ی آسیب کلیوی (KTDS) یا (Kidney tissue damage score) در بین گروه‌ها، از آزمون‌های Kruskal-Wallis و Mann-Whitney و برای مقایسه‌ی درصد تغییرات وزن بدن، از آزمون آنالیز واریانس برای داده‌های مکرر (ANOVA with repeated measures) استفاده

## یافته‌ها

### تغییرات وزن

درصد تغییرات وزن حیوانات بر حسب جنس در شکل ۱ آمده است. سیس پلاتین، در همه‌ی گروه‌ها اعم از نر و ماده موجب کاهش وزن شد. در حیوانات ماده و در بین چهار گروه، تفاوت معنی داری مشاهده نگردید و حیوانات ۱۷-۱۱ درصد نسبت به روز اول تزریق سیس پلاتین کاهش وزن داشتند. این کاهش وزن، در همه‌ی گروه‌ها معنی دار بود ( $P < 0/001$ )، اما بین گروه‌ها تفاوتی مشاهده نگردید ( $P = 0/150$ ). این نتیجه در حیوانات نر متفاوت بود و گروه‌های دریافت کننده‌ی ال- آرژنین، درصد کاهش وزن بیشتری را نسبت به گروه شاهد مثبت نشان دادند ( $P < 0/001$ ) (شکل ۱).

### تغییرات سطح BUN، Cr و نیتريت، سطح بافتی

#### نیتريت، وزن کلیه و KTDS

دریافت ال- آرژنین همراه با سیس پلاتین بدون دریافت پروفیلاکسی، موجب کاهش سطح سرمی BUN و Cr در گروه ۴ (نر) گردید. کاهش این پارامترها با KTDS نیز در یک راستا بود و در گروه ۴، شدت آسیب بافت به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد مثبت کمتر بود ( $P < 0/050$ ). وزن کلیه همچنین در این گروه، کمتر از گروه ۱ بود، اما این کاهش معنی دار نبود ( $P = 0/200$ ). سطح سرمی نیتريت در حیوانات نر و در گروه‌های ۲ و ۳ به صورت معنی داری از گروه ۱ بیشتر بود ( $P < 0/050$ )، در حالی که سطح بافتی نیتريت در

بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت.

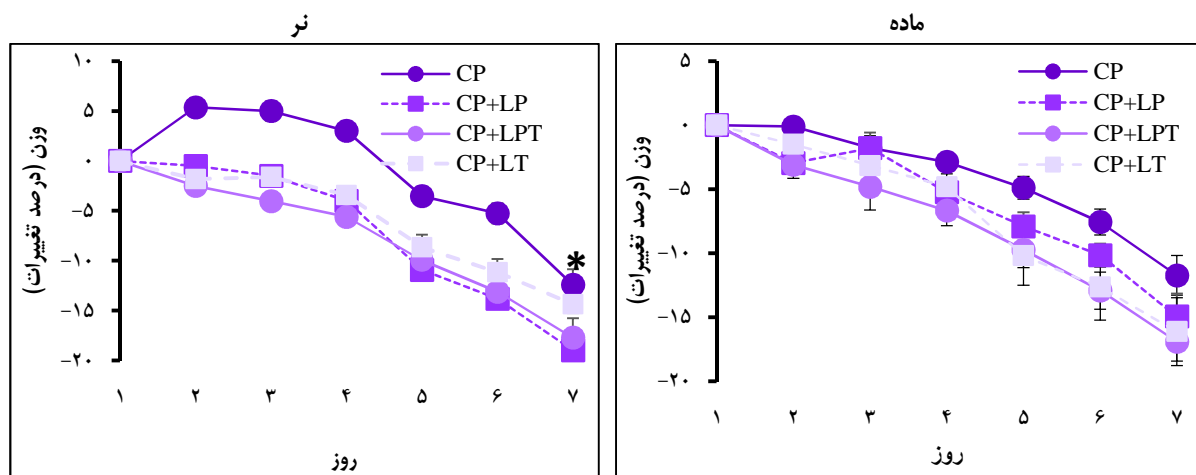
مقایسه‌ی دو جنس نشان می‌دهد که هیچ یک از روش‌های تزریق ال-آرژنین در جنس ماده تفاوت معنی‌داری را برای پارامترهای اندازه‌گیری شده در مقایسه با گروه دریافت کننده‌ی سیس پلاتین به تنهایی نشان نمی‌دهد. از این رو، همراه شدن ال-آرژنین با سیس پلاتین و آن هم در جنس نر، می‌تواند نقش حمایت کننده‌ای برای کاهش نفروتوکسیسیته ناشی از سیس پلاتین داشته باشد (شکل ۲). نمونه‌هایی از آسیب بافت کلیه در گروه‌های مورد مطالعه در شکل ۳ نشان داده شده است.

### بحث

هدف این مطالعه، بررسی اثر روش‌های متفاوت

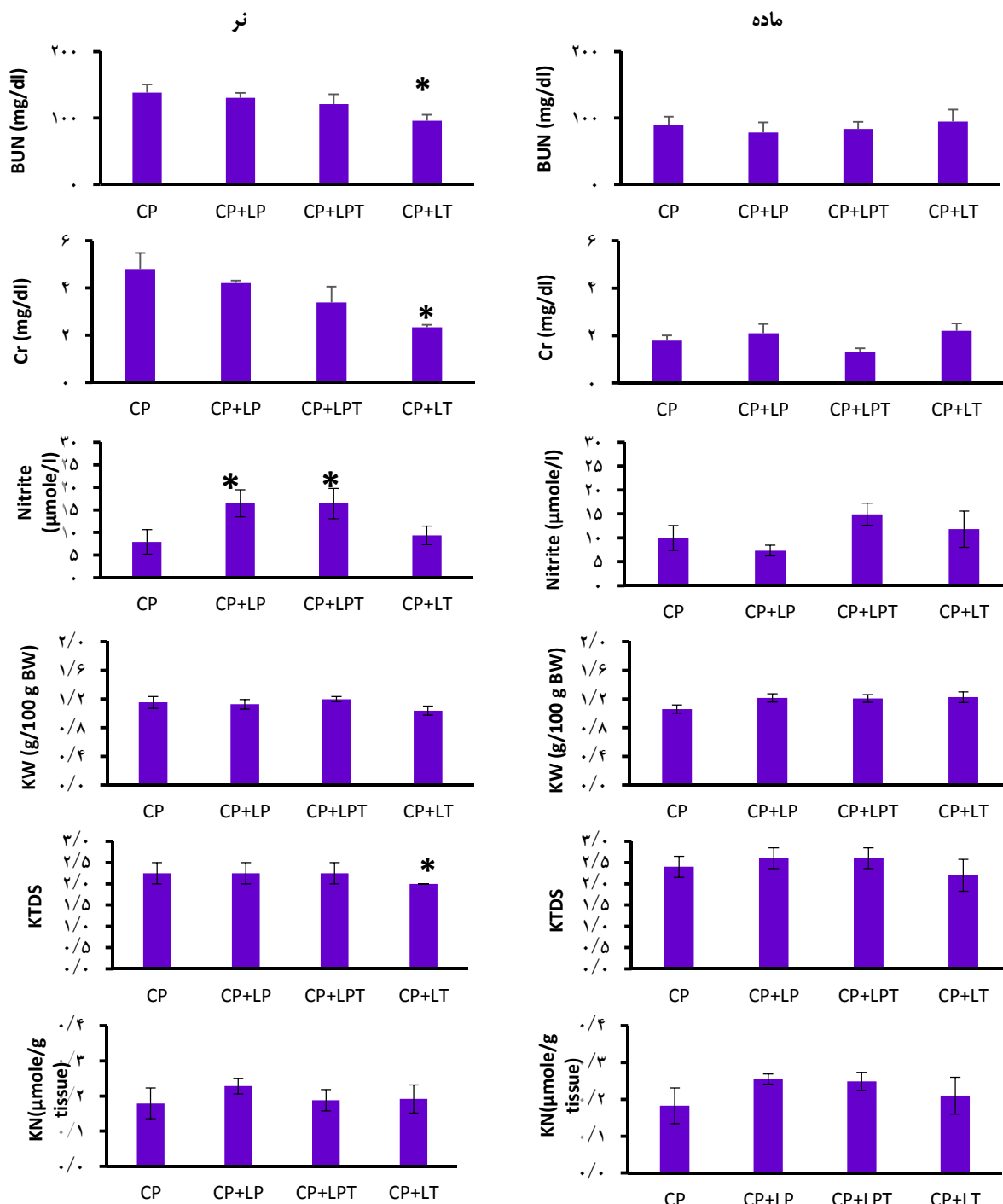
تجویز ال-آرژنین در مدل نفروتوکسیسیته ناشی از سیس پلاتین در دو جنس نر و ماده بود تا مشخص گردد که کدام یک از روش‌های تجویز ال-آرژنین (پروفیلاکسی، استفاده همراه با سیس پلاتین و استفاده هم به صورت پروفیلاکسی و هم همراه با سیس پلاتین) در جلوگیری از نفروتوکسیسیته ناشی از سیس پلاتین و در کدام جنس مؤثر است.

نتایج نشان داد که از میان روش‌های متفاوت تجویز ال-آرژنین، تنها تجویز هم زمان این دارو با سیس پلاتین، نفروتوکسیسیته ناشی از سیس پلاتین را در جنس نر کاهش می‌دهد؛ در حالی که هیچ کدام از روش‌های تجویز ال-آرژنین در کاهش نفروتوکسیسیته ناشی از سیس پلاتین در جنس ماده مؤثر نیست.

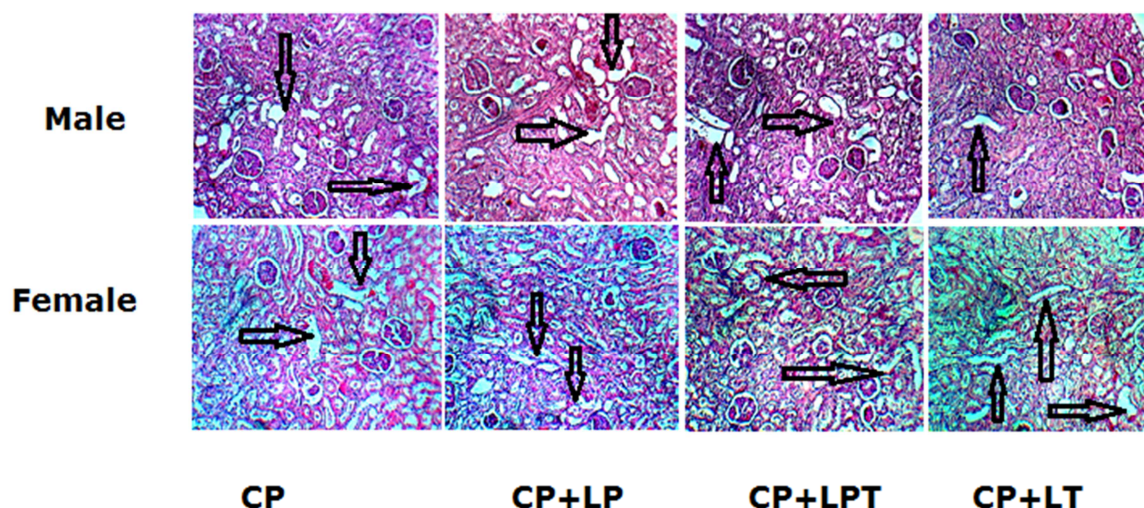


شکل ۱. درصد تغییرات وزن بدن حیوانات در طی هفته‌ی دریافت سیس پلاتین. گروه‌های CP (سیس پلاتین)، نر و ماده‌هایی هستند که به عنوان گروه‌های شاهد مثبت سیس پلاتین را به طور روزانه برای یک هفته دریافت کردند. گروه‌های CP + LP (ابتدا ال-آرژنین و پس از قطع آن، سیس پلاتین)، نر و ماده‌هایی هستند که به عنوان گروه‌های پروفیلاکسی همراه با درمان، تحت دریافت ال-آرژنین به مدت سه روز قرار گرفتند و سپس بدون این که تزریق روزانه‌ی ال-آرژنین تا پایان مطالعه قطع شود، از روز سوم، سیس پلاتین به مدت یک هفته دریافت کردند. گروه‌های CP + LT (از ابتدا، ال-آرژنین به همراه سیس پلاتین) نر و ماده‌هایی هستند که به عنوان گروه‌های درمان به طور هم‌زمان سیس پلاتین و ال-آرژنین را به طور روزانه دریافت کردند.

$P < 0/001$  (گروه، وزن و گروه  $\times$  وزن) در جنس نر؛  $P < 0/001$  (وزن)؛  $P = 0/150$  (گروه)؛  $P = 0/210$  (گروه  $\times$  وزن) در جنس ماده



شکل ۲. سطح سرمی ازت اورهی خون (BUN)، کراتینین (Cr) و نیتريت، سطح کلیوی نیتريت (KN) و وزن کلیه به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن (BW) و نمره‌ی آسیب بافت کلیه در گروه‌های مورد مطالعه در دو جنس نر و ماده. \* نشانگر تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد مثبت (گروه ۱) است. گروه‌های CP، نر و ماده‌هایی هستند که به عنوان گروه‌های شاهد مثبت سیس پلاتین را به طور روزانه برای یک هفته دریافت کردند. گروه‌های CP + LP نر و ماده‌هایی هستند که به عنوان گروه‌های پروفیلاکسی، ال- آرژنین را به مدت سه روز و از روز سوم، سیس پلاتین را به مدت یک هفته دریافت کردند. گروه‌های CP + LPT، نر و ماده‌هایی هستند که به عنوان گروه‌های پروفیلاکسی همراه با درمان، تحت دریافت ال- آرژنین به مدت سه روز قرار گرفتند و سپس بدون این که تزریق روزانه‌ی ال- آرژنین تا پایان مطالعه قطع شود، از روز سوم، سیس پلاتین به مدت یک هفته دریافت کردند. گروه‌های CP + LT نر و ماده‌هایی هستند که به عنوان گروه‌های درمان به طور هم‌زمان سیس پلاتین و ال- آرژنین را به طور روزانه دریافت کردند.



شکل ۳. نمونه‌هایی از آسیب بافت کلیه در تمام گروه‌های آزمایشی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰. گروه‌های CP، نر و ماده‌هایی هستند که به عنوان گروه‌های شاهد مثبت، سیسپلاتین را به طور روزانه برای یک هفته دریافت کردند. گروه‌های CP + LP، نر و ماده‌هایی هستند که به عنوان گروه‌های پروفیلاکسی، ال- آرژنین را به مدت سه روز و از روز سوم، سیسپلاتین به مدت یک هفته دریافت کردند. گروه‌های CP + LPT، نر و ماده‌هایی هستند که به عنوان گروه‌های پروفیلاکسی همراه با درمان، تحت دریافت ال- آرژنین به مدت سه روز قرار گرفتند و سپس بدون این که تزریق روزانه‌ی ال- آرژنین تا پایان مطالعه قطع شود، از روز سوم، سیسپلاتین به مدت یک هفته دریافت کردند. گروه‌های CP + LT نر و ماده‌هایی هستند که به عنوان گروه‌های درمان به طور هم‌زمان سیسپلاتین و ال- آرژنین را به طور روزانه دریافت کردند.

سیسپلاتین در جنس نر مشاهده شده بود (۲۲-۲۳). مطالعات نشان داده‌اند که تجویز ال- آرژنین، می‌تواند اختلال در عملکرد کلیه ناشی از تجویز سیکلوسپورین (۳۲) و جنتامایسین (۳۳) را بهبود بخشد. ال- آرژنین، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سیسپلاتین را کاهش می‌دهد و فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز را افزایش می‌دهد (۲۲). ال- آرژنین، همچنین می‌تواند کاهش جریان خون کلیه و کلیرانس کراتینین را در مدل نفروتوکسیسیتی ایجاد شده با جنتامایسین بهبود بخشد (۳۴).

به نظر می‌رسد که اکسید نیتریک به عنوان یک تعدیل‌کننده‌ی نفروتوکسیسیتی ناشی از سیسپلاتین نقش مهمی ایفا می‌کند. مهار این تعدیل‌کننده با استفاده از تجویز L-NAME، باعث تشدید نفروتوکسیسیتی ناشی از سیسپلاتین در حیوانات نر

تجویز سیسپلاتین نفروتوکسیسیتی را تحریک می‌کند و باعث افزایش شاخص‌های اصلی عملکرد کلیه یعنی BUN و Cr می‌گردد (۲۵-۲۸، ۱۹، ۱۷). در همین راستا، شاخص‌های آسیب بافت کلیه نیز افزایش می‌یابد و ارتباط مستقیمی بین آسیب بافت کلیه و افزایش سطوح سرمی BUN و Cr وجود دارد (۲۹). استرس اکسیداتیو، التهاب، اختلال در عملکرد میتوکندریایی و آپوپتوز، مکانیسم‌هایی هستند که در نفروتوکسیسیتی ناشی از سیسپلاتین درگیر می‌شوند (۳۰-۳۱).

در این مطالعه، اثرات حفاظتی ال- آرژنین بر نفروتوکسیسیتی در جنس نر زمانی مشاهده شد که این دارو، به طور هم‌زمان با سیسپلاتین تجویز گردید. در مطالعات قبلی نیز اثرات محافظتی تجویز تک دوز ال- آرژنین بر نفروتوکسیسیتی ناشی از

نفروتوکسیسیته ناشی از سیسپلاتین نداشت و هیچ کدام از پارامترهای آسیب کلیوی را بهبود نبخشید. در مطالعات قبلی نیز مشاهده شده بود که تجویز تک دوز ال- آرژنین، باعث تشدید نفروتوکسیسیته ناشی از سیسپلاتین در جنس ماده می‌گردد (۲۳). از طرف دیگر، مهار اکسید نیتریک با استفاده از L-NAME نیز اثر قابل توجهی روی آسیب کلیوی ناشی از سیسپلاتین در جنس ماده نداشت؛ هر چند که رو به بهبودی می‌رفت (۲۵).

این احتمال وجود دارد که اکسید نیتریک در دو جنس نر و ماده، یکسان عمل نکند؛ حتی تغییرات سطح این نشانگر نیز پس از تجویز سیسپلاتین در دو جنس متفاوت است (۳۷، ۲۱) و تجویز مهار کننده‌ی آن، نفروتوکسیسیته ناشی از سیسپلاتین را در جنس نر تشدید می‌کند، اما این اثر در جنس ماده مشاهده نمی‌گردد (۲۵).

علاوه بر این، تجویز ترکیبات دیگری نظیر اریتروپوئیتین (۳۸) و لوزارتان (۱۶) نیز اثر مثبتی روی نفروتوکسیسیته ناشی از سیسپلاتین در جنس ماده نشان ندادند. به نظر می‌رسد که وجود مشاهدات متفاوت در دو جنس نر و ماده، به هورمون‌های جنسی بر می‌گردد. مطالعات نشان داده‌اند که استروژن اثرات حفاظتی ترکیباتی نظیر اریتروپوئیتین (۳۹)، ویتامین E، لوزارتان و ویتامین C (۴۰) را روی نفروتوکسیسیته ناشی از سیسپلاتین تحت تأثیر قرار می‌دهد. از یک طرف، وجود استروژن و تولید اکسید نیتریک در ارتباط مستقیم با هم هستند (۴۱) و استروژن می‌تواند بیان آنزیم سنتز کننده‌ی اکسید نیتریک القایی را زیاد کند (۴۲). از طرف دیگر، سیسپلاتین نیز بیان این آنزیم را افزایش می‌دهد (۴۳).

(۲۵) و افزایش آسیب بافتی در آن‌ها می‌شود و مرگ و میر حیوانات را افزایش می‌دهد؛ همچنین، ترکیب این دارو با ال- آرژنین، اثرات حفاظتی ال- آرژنین را کاهش می‌دهد (۲۲).

از این رو، احتمال دارد که تجویز ال- آرژنین به عنوان دهنده‌ی اکسید نیتریک، هم‌زمان با سیسپلاتین می‌تواند در کاهش آسیب کلیوی ناشی از سیسپلاتین مؤثر باشد. مطالعات نشان داده‌اند که سیسپلاتین سطح سرمی نیتریت و همچنین سطح سرمی نیتریت و نیترات را افزایش می‌دهد (۳۵، ۲۱) و ال- آرژنین به عنوان یک عامل حفاظتی، می‌تواند این افزایش را کم کند (۳۵).

در مطالعه‌ی حاضر نیز مشاهده شد که تجویز ال- آرژنین به صورت پروفیلاکسی و نیز به صورت پروفیلاکسی و سپس همراهی با سیسپلاتین، افزایش سطح اکسید نیتریک ناشی از سیسپلاتین را تشدید کرد و تنها تجویز هم‌زمان ال- آرژنین با سیسپلاتین، در کاهش آن مؤثر بود. احتمال دیگری که وجود دارد، این است که ال- آرژنین پیش‌ساز نوع القایی آنزیم نیتریک اکسید سنتز را افزایش دهد و موجب افزایش اکسید نیتریک القایی شود و از این طریق نفروتوکسیسیته را افزایش دهد. این احتمال کمتر وجود دارد؛ چرا که در مطالعات قبلی اثبات شده است که احتمال کاهش، بیشتر است و تجویز ال- آرژنین، می‌تواند سطح نیتریت و نیترات را از طریق کاهش بیان mRNA آنزیم سنتز کننده‌ی اکسید نیتریک القایی در مدل ایسکمی- ریپرفیوژن کلیوی کم کند (۳۶).

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویزهای متفاوت ال- آرژنین در جنس ماده، اثری روی

ال- آرژنین کاهش وزن بدن ناشی از سیس‌پلاتین را در جنس ماده افزایش می‌دهد، اما در جنس نر این پارامتر بهبود می‌یابد (۲۳).

مطالعه‌ای نشان می‌دهد که بین کاهش وزن بدن و افزایش سطح اکسید نیتریک رابطه وجود دارد (۴۹). بنابراین، به نظر می‌رسد که کاهش بیشتر وزن بدن در هر دو جنس با افزایش سطح اکسید نیتریک قابل توجه است که این افزایش، می‌تواند در اثر تجویز دوزهای مکرر ال- آرژنین ایجاد شده باشد.

### نتیجه‌گیری

تجویز هم‌زمان ال- آرژنین و سیس‌پلاتین در کاهش نفروتوکسیسیستی ناشی از سیس‌پلاتین شاید از طریق بهبود عملکرد اندوتلیالی در جنس نر مؤثر است و هیچ کدام از روش‌های تجویز ال- آرژنین، نتوانستند نفروتوکسیسیستی ناشی از سیس‌پلاتین را در جنس ماده کاهش دهند؛ هر چند که آسیب را هم تشدید نکردند. به نظر می‌رسد که همراهی ترکیبات دیگری با ال- آرژنین، بتواند در بهبود آسیب کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین در جنس ماده مؤثر واقع شود.

### تشکر و قدردانی

این طرح پژوهشی با شماره‌ی ۲۹۳۳۶۸ مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بوده و با حمایت مالی دانشگاه انجام شده است. بدین وسیله از مسؤولان این دانشگاه سپاسگزاری می‌گردد.

بنابراین، احتمال آن وجود دارد که وجود استروژن در عدم بهبودی و یا تشدید آسیب کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین نقش داشته باشد. هر چند در مطالعه‌ای مشخص شد که تجویز لوزارتان (۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) همراه با منیزیوم (۳ گرم در لیتر آب آشامیدنی) توانسته است آسیب کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین را در جنس ماده تا حدودی کاهش دهد (۲۶). بنابراین، شاید بتوان از همراهی ترکیبات دیگری همراه با ال- آرژنین برای کاهش نفروتوکسیسیستی ناشی از سیس‌پلاتین در جنس ماده استفاده کرد.

همچنین، مطالعه‌ی دیگری نشان داد که تجویز صفاقی ان- استیل سیستین، تأثیر قابل توجهی روی کاهش نفروتوکسیسیستی ناشی از سیس‌پلاتین در دو جنس ندارد که احتمال می‌رود مربوط به نحوه‌ی تجویز دارو باشد (۴۴). بنابراین، نحوه‌ی تجویز دارو نیز می‌تواند اثربخشی آن را تحت تأثیر قرار دهد که در مطالعه‌ی حاضر، تجویز ال- آرژنین به طور هم‌زمان با سیس‌پلاتین اثرات مثبت خود را روی آسیب کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین نشان داد.

در این مطالعه، سیس‌پلاتین باعث کاهش وزن بدن در هر دو جنس نر و ماده گردید. این کاهش وزن ناشی از سیس‌پلاتین در مطالعات گذشته نیز دیده شد (۴۷-۴۵، ۲۵، ۱۹) که ممکن است به خاطر ناهنجاری‌های گوارشی باشد (۴۸) و تجویز ال- آرژنین نه تنها نتوانست این کاهش را جبران کند، بلکه در جنس نر باعث کاهش بیشتر در وزن بدن گردید. در مطالعات قبل نشان داده شد که تجویز

### References

- Schilsky RL, Anderson T. Hypomagnesemia and renal magnesium wasting in patients receiving cisplatin. *Ann Intern Med* 1979; 90(6): 929-31.



2. Vogelzang NJ, Torkelson JL, Kennedy BJ. Hypomagnesemia, renal dysfunction, and Raynaud's phenomenon in patients treated with cisplatin, vinblastine, and bleomycin. *Cancer* 1985; 56(12): 2765-70.
3. Tezcan S, Izzettin FV, Sancar M, Yumuk PF, Turhal S. Nephrotoxicity evaluation in outpatients treated with cisplatin-based chemotherapy using a short hydration method. *Pharmacology and Pharmacy* 2013; 4(3): 293-302.
4. Logothetis CJ, Assikis V, Sarriera JE. Diagnosis, treatment, and prevention of nephrotoxicity of cancer therapeutic agents. In: Kufe DW, Pollock RE, Ralph R Weichselbaum RR, Bast RC, Gansler TS, editors. *Holland-Frei Cancer Medicine*; 6<sup>th</sup> ed. Hamilton, ON: BC Decker; 2003.
5. Santoso JT, Lucci JA, III, Coleman RL, Schafer I, Hannigan EV. Saline, mannitol, and furosemide hydration in acute cisplatin nephrotoxicity: a randomized trial. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003; 52(1): 13-8.
6. Stewart DJ, Mikhael NZ, Nanji AA, Nair RC, Kacew S, Howard K, et al. Renal and hepatic concentrations of platinum: relationship to cisplatin time, dose, and nephrotoxicity. *J Clin Oncol* 1985; 3(9): 1251-6.
7. Dobyant DC, Levi J, Jacobs C, Kosek J, Weiner MW. Mechanism of cis-platinum nephrotoxicity: II. Morphologic observations. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 213(3): 551-6.
8. Atessahin A, Yilmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology* 2005; 212(2-3): 116-23.
9. Chirino YI, Pedraza-Chaverri J. Role of oxidative and nitrosative stress in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Exp Toxicol Pathol* 2009; 61(3): 223-42.
10. Nematbakhsh M, Ashrafi F, Safari T, Talebi A, Nasri H, Mortazavi M, et al. Administration of vitamin E and losartan as prophylaxes in cisplatin-induced nephrotoxicity model in rats. *J Nephrol* 2012; 25(3): 410-7.
11. Antunes LM, Darin JD, Bianchi MD. Protective effects of vitamin c against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose-dependent study. *Pharmacol Res* 2000; 41(4): 405-11.
12. Motamedi F, Nematbakhsh M, Monajemi R, Pezeshki Z, Talebi A, Zolfaghari B, et al. Effect of pomegranate flower extract on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Nephropathol* 2014; 3(4): 133-8.
13. Nematbakhsh M, Hajhashemi V, Ghannadi A, Talebi A, Nikahd M. Protective effects of the *Morus alba* L. leaf extracts on cisplatin-induced nephrotoxicity in rat. *Res Pharm Sci* 2013; 8(2): 71-7.
14. Deegan PM, Nolan C, Ryan MP, Basinger MA, Jones MM, Hande KR. The role of the renin-angiotensin system in cisplatin nephrotoxicity. *Ren Fail* 1995; 17(6): 665-74.
15. Kamper M, Tsimpoukidi O, Chatzigeorgiou A, Lymberi M, Kamper EF. The antioxidant effect of angiotensin II receptor blocker, losartan, in streptozotocin-induced diabetic rats. *Transl Res* 2010; 156(1): 26-36.
16. Haghighi M, Nematbakhsh M, Talebi A, Nasri H, Ashrafi F, Roshanaei K, et al. The role of angiotensin II receptor 1 (AT1) blockade in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: gender-related differences. *Ren Fail* 2012; 34(8): 1046-51.
17. Nematbakhsh M, Ebrahimian S, Tooyserkani M, Eshraghi-Jazi F, Talebi A, Ashrafi F. Gender difference in Cisplatin-induced nephrotoxicity in a rat model: greater intensity of damage in male than female. *Nephrourol Mon* 2013; 5(3): 818-21.
18. Pinches M, Betts C, Bickerton S, Burdett L, Thomas H, Derbyshire N, et al. Evaluation of novel renal biomarkers with a cisplatin model of kidney injury: gender and dosage differences. *Toxicol Pathol* 2012; 40(3): 522-33.
19. Nematbakhsh M, Talebi A, Nasri H, Safari T, Dolatkah Sh, Ashrafi F. Some evidence for sex-based differences in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Med Sci Tech* 2012; 53(1): RA29-32.
20. Pezeshki Z, Nematbakhsh M, Nasri H, Talebi A, Pilehvarian AA, Safari T, et al. Evidence against protective role of sex hormone estrogen in Cisplatin-induced nephrotoxicity in ovariectomized rat model. *Toxicol Int* 2013; 20(1): 43-7.
21. Nematbakhsh M, Sorooshzadeh SMA, Pezeshki Z, Talebi A, Ashrafi F. Gender difference in the serum levels of total nitric oxide metabolites, nitrite, and nitrate in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Isfahan Med Sch* 2013; 30(214): 1967-75. [In Persian].
22. Saleh S, El-Demerdash E. Protective effects of L-arginine against cisplatin-induced renal oxidative stress and toxicity: role of nitric oxide. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 97(2): 91-7.
23. Eshraghi-Jazi F, Nematbakhsh M, Nasri H, Talebi A, Haghighi M, Pezeshki Z, et al. The protective role of endogenous nitric oxide donor (L-arginine) in cisplatin-induced nephrotoxicity: Gender related differences in rat model. *J Res Med Sci* 2011; 16(11): 1389-96.
24. Kohli R, Meininger CJ, Haynes TE, Yan W, Self JT, Wu G. Dietary L-arginine

- supplementation enhances endothelial nitric oxide synthesis in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr* 2004; 134(3): 600-8.
25. Moslemi F, Nematbakhsh M, Eshraghi-Jazi F, Talebi A, Nasri H, Ashrafi F, et al. Inhibition of Nitric Oxide Synthase by L-NAME Promotes Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Male Rats. *ISRN Toxicol* 2013; 2013: 242345.
  26. Razmjoo F, Soltani N, Nematbakhsh M. The role of losartan and oral magnesium sulfate in cisplatin induced nephrotoxicity in female rats. *Br J Pharm Res* 2014; 4(15): 1886-99.
  27. Ashrafi F, Haghshenas S, Nematbakhsh M, Nasri H, Talebi A, Eshraghi-Jazi F, et al. The Role of Magnesium Supplementation in Cisplatin-induced Nephrotoxicity in a Rat Model: No Nephroprotectant Effect. *Int J Prev Med* 2012; 3(9): 637-43.
  28. Rostami B, Nematbakhsh M, Pezeshki Z, Talebi A, Sharifi MR, Moslemi F, et al. Effect of testosterone on Cisplatin-induced nephrotoxicity in surgically castrated rats. *Nephrourol Mon* 2014; 6(5): e21546.
  29. Nematbakhsh M, Ashrafi F, Nasri H, Talebi A, Pezeshki Z, Eshraghi F, et al. A model for prediction of cisplatin induced nephrotoxicity by kidney weight in experimental rats. *J Res Med Sci* 2013; 18(5): 370-3.
  30. Ramesh G, Reeves WB. TNF-alpha mediates chemokine and cytokine expression and renal injury in cisplatin nephrotoxicity. *J Clin Invest* 2002; 110(6): 835-42.
  31. Santos NA, Catao CS, Martins NM, Curti C, Bianchi ML, Santos AC. Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. *Arch Toxicol* 2007; 81(7): 495-504.
  32. Mansour M, Daba MH, Gado A, Al-Rikabi A, Al-Majed A. Protective effect of L-arginine against nephrotoxicity induced by cyclosporine in normal rats. *Pharmacol Res* 2002; 45(6): 441-6.
  33. Can C, Sen S, Boztok N, Tuğlular I. Protective effect of oral L-arginine administration on gentamicin-induced renal failure in rats. *Eur J Pharmacol* 2000; 390(3): 327-34.
  34. Bidadkosh A, Derakhshanfar A, Rastegar AM, Yazdani S. Antioxidant preserving effects of l-arginine at reducing the hemodynamic toxicity of gentamicin-induced rat nephrotoxicity: pathological and biochemical findings. *Comparative Clinical Pathology* 2012; 21(6): 1739-44.
  35. Pezeshki Z, Nematbakhsh M. Nitric oxide metabolites change in cisplatin-induced nephrotoxicity: the effect of L-arginine and losartan. *J Anal Oncol* 2013; 2(2): 117-9.
  36. Kosaka H, Yoneyama H, Zhang L, Fujii S, Yamamoto A, Igarashi J. Induction of LOX-1 and iNOS expressions by ischemia-reperfusion of rat kidney and the opposing effect of L-arginine. *FASEB J* 2003; 17(6): 636-43.
  37. Nematbakhsh M, Pezeshki Z. Sex-Related Difference in Nitric Oxide Metabolites Levels after Nephroprotectant Supplementation Administration against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Wistar Rat Model: The Role of Vitamin E, Erythropoietin, or N-Acetylcysteine. *ISRN Nephrol* 2013; 2013: 612675.
  38. Eshraghi-Jazi F, Nematbakhsh M, Pezeshki Z, Nasri H, Talebi A, Safari T, et al. Sex differences in protective effect of recombinant human erythropoietin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Iran J Kidney Dis* 2013; 7(5): 383-9.
  39. Pezeshki Z, Nematbakhsh M, Mazaheri S, Eshraghi-Jazi F, Talebi A, Nasri H, et al. Estrogen Abolishes Protective Effect of Erythropoietin against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Ovariectomized Rats. *ISRN Oncol* 2012; 2012: 890310.
  40. Nematbakhsh M, Pezeshki Z, Eshraghi-Jazi F, Ashrafi F, Nasri H, Talebi A, et al. Vitamin E, Vitamin C, or Losartan Is Not Nephroprotectant against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Presence of Estrogen in Ovariectomized Rat Model. *Int J Nephrol* 2012; 2012: 284896.
  41. Xia Y, Krukoff TL. Estrogen induces nitric oxide production via activation of constitutive nitric oxide synthases in human neuroblastoma cells. *Endocrinology* 2004; 145(10): 4550-7.
  42. Ogando D, Farina M, Ribeiro ML, Perez MS, Cella M, Rettori V, et al. Steroid hormones augment nitric oxide synthase activity and expression in rat uterus. *Reprod Fertil Dev* 2003; 15(5): 269-74.
  43. Leung EL, Fraser M, Fiscus RR, Tsang BK. Cisplatin alters nitric oxide synthase levels in human ovarian cancer cells: involvement in p53 regulation and cisplatin resistance. *Br J Cancer* 2008; 98(11): 1803-9.
  44. Rajabi N, Nematbakhsh M, Pezeshki Z, Talebi A, Ashrafi F. N-acetylcysteine and cisplatin-induced nephrotoxicity: is it a suitable antioxidant supplementation to prevent nephrotoxicity in male or female rats? *J Isfahan Med Sch* 2013; 31(229): 294-304. [In Persian].
  45. Mazaheri S, Nematbakhsh M, Bahadorani M, Pezeshki Z, Talebi A, Ghannadi AR, et al. Effects of Fennel Essential Oil on Cisplatin-

- induced Nephrotoxicity in Ovariectomized Rats. *Toxicol Int* 2013; 20(2): 138-45.
46. Rastghalam R, Nematbakhsh M, Bahadorani M, Eshraghi-Jazi F, Talebi A, Moeini M, et al. Angiotensin Type-1 Receptor Blockade May Not Protect Kidney against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *ISRN Nephrol* 2014; 2014: 479645.
47. Soltani N, Nematbakhsh M, Eshraghi-Jazi F, Talebi A, Ashrafi F. Effect of oral administration of magnesium on Cisplatin-induced nephrotoxicity in normal and streptozocin-induced diabetic rats. *Nephrourol Mon* 2013; 5(4): 884-90.
48. Ohno T, Kato S, Wakatsuki M, Noda SE, Murakami C, Nakamura M, et al. Incidence and temporal pattern of anorexia, diarrhea, weight loss, and leukopenia in patients with cervical cancer treated with concurrent radiation therapy and weekly cisplatin: comparison with radiation therapy alone. *Gynecol Oncol* 2006; 103(1): 94-9.
49. Fenster CP, Darley-USmar VM, Landar AL, Gower BA, Weinsier RL, Hunter GR, et al. Weight loss and race modulate nitric oxide metabolism in overweight women. *Free Radic Biol Med* 2004; 37(5): 695-702.

## The Evaluation of L-arginine Prophylaxis and Treatment on Preventing Nephrotoxicity Cisplatin-Induced in Rat: Role of Gender Difference

Moazzameh Meimandinia<sup>1</sup>, Roya Amiri<sup>1</sup>, Fatemeh Eshraghi-Jazi<sup>1</sup>,  
Ardeshir Talebi MD<sup>2</sup>, Mehdi Nematbakhsh PhD<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Nephrotoxicity is the main side effect of cisplatin (CP)-therapy which is induced by oxidative stress. Nephrotoxicity is gender related and limits the cisplatin treatment. Therefore, it is essential to prevent or to ameliorate cisplatin-induced nephrotoxicity via administration of supplementations. This study was designed to investigate the effect of L-arginine (L-Arg) prophylaxis and treatment on preventing cisplatin-induced nephrotoxicity in male and female rats.

**Methods:** Sixteen male and twenty female Wistar rats were divided into eight groups. Groups 1 (male) and 5 (female), as positive control groups, received cisplatin (2.5 mg/kg/day; Intraperitoneally) for a week. Groups 2 (male) and 6 (female) received L-arginine (150 mg/kg/day; Intraperitoneally) as prophylaxis for 3 days, and cisplatin was administered from the day 3 for a week. Groups 3 (male) and 7 (female) received L-arginine, as prophylaxis for 3 days; and cisplatin was administered from the day 3, for a week, without withdrawal of daily L-arginine administration. Groups 4 (male) and 8 (female) received cisplatin and L-arginine simultaneously for a week. On the day 10, blood samples were taken and kidneys were prepared for histopathological investigation.

**Findings:** L-arginine administration did not change the measured parameters from positive control group in females. Simultaneous administration of cisplatin and L-arginine decreased serum levels of blood urea nitrogen and creatinine as well as intensity of renal tissue damage in comparison with positive control group in males ( $P < 0.05$ ). In addition, it ameliorated kidney weight in comparison with positive control group in male, insignificantly ( $P = 0.20$ ). No significant difference was observed in tissue nitrite level among male groups and L-arginine treated male groups had body weight loss more than positive control group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Simultaneous administration of L-arginine, as nitric oxide precursor, and cisplatin could ameliorate cisplatin-induced nephrotoxicity in male gender through improving endothelium function.

**Keywords:** Cisplatin, Nephrotoxicity, L-arginine, Gender

**Citation:** Meimandinia M, Amiri R, Eshraghi-Jazi F, Talebi A, Nematbakhsh M. **The Evaluation of L-arginine Prophylaxis and Treatment on Preventing Nephrotoxicity Cisplatin-Induced in Rat: Role of Gender Difference.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(339): 932-44

1- Student of Medicine, Water and Electrolytes Research Center AND School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Water and Electrolytes Research Center AND Department of Clinical Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Professor, Water and Electrolytes Research Center AND Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences AND Institute of Basic and Applied Sciences Research, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Mehdi Nematbakhsh PhD, Email: [nematbakhsh@med.mui.ac.ir](mailto:nematbakhsh@med.mui.ac.ir)

## اثرات راهبردهای درمانی و اطلاعات دموگرافیکی روی احتمال عوارض بافت‌های طبیعی در رادیوتراپی سر و گردن از طریق مدل Lyman

دکتر نصراله جباری<sup>۱</sup>، سیدرضا موسوی<sup>۲</sup>، دکتر امید اثنا عشری<sup>۳</sup>، مهدی اقدسی<sup>۴</sup>، دکتر حمیدرضا خلخالی<sup>۵</sup>

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**مقدمه:** هدف از این مطالعه، ارزیابی اثرات راهبردهای درمانی و اطلاعات دموگرافیکی بیماران روی احتمال بروز عوارض در بافت‌های طبیعی در رادیوتراپی سر و گردن با استفاده از مدل Lyman بود.

**روش‌ها:** این مطالعه، بر روی ۷۸ بیمار مبتلا به سرطان سر و گردن که در طی سه سال گذشته دوره‌ی درمان آن‌ها به پایان رسیده بود، انجام گردید. در این تحقیق، از اطلاعات موجود بیماران در سیستم طراحی درمان CorePlan استفاده شد. در نهایت، احتمال آسیب وارده به بافت‌های طبیعی (بافت‌های در معرض خطر) از روی مقدار دوز رسیده به حجم‌های مورد نظر و همچنین، اندازه‌ی حجم تحت تابش آن‌ها با استفاده از مدل آماری (مدل Lyman) به کار رفته در NTCP (Normal tissue complication probability) سیستم طراحی درمانی CorePlan تعیین شد. از نرم‌افزار SPSS برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. در این مطالعه، از آمارهای توصیفی مانند میانگین و نسبت‌ها برای توصیف داده‌ها و همچنین از آزمون‌های Mann-Whitney، Kruskal-Wallis، و ضریب همبستگی Spearman استفاده گردید.

**یافته‌ها:** احتمال عوارض بافت‌های طبیعی به شدت تحت تأثیر موقعیت این بافت‌ها نسبت به تابش قرار دارد؛ به طوری که بین موقعیت تومور و احتمال عارضه‌ی تمامی بافت‌های طبیعی مجاور ارتباط معنی‌دار مشاهده گردید ( $P < 0/050$ ). افزایش دوز با احتمال عارضه‌ی تیروئید ارتباط معنی‌داری نشان داد ( $P = 0/004$ )، اما بین گروه سنی بیماران، جنسیت بیماران، Stage تومور و نوع درمان یا احتمال عوارض بافت‌های طبیعی ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/050$ ).

**نتیجه‌گیری:** بر اساس داده‌های این مطالعه، بین موقعیت تومور و احتمال عوارض بافت‌های طبیعی مجاور، ارتباط معنی‌داری مشاهده گردید که این امر، بیانگر تأثیر طراحی درمان بهینه و استفاده از تجهیزات مناسب رادیوتراپی در بهبود عوارض بیماران مبتلا به سرطان سر و گردن پس از تکمیل روند درمان می‌باشد. همچنین، هنگام استفاده از دوز تابشی بالا برای پرتودرمانی بیماران مبتلا به سرطان سر و گردن، بایستی تدابیری جهت حفظ تیروئید به خصوص مواقعی که تومور در گردن بیمار قرار دارد، در نظر گرفته شود.

**واژگان کلیدی:** رادیوتراپی، سرطان سر و گردن، احتمال عارضه‌ی بافت‌های طبیعی، هیستوگرام دوز حجمی

**ارجاع:** جباری نصراله، موسوی سیدرضا، اثنا عشری امید، اقدسی مهدی، خلخالی حمیدرضا. اثرات راهبردهای درمانی و اطلاعات دموگرافیکی روی احتمال عوارض بافت‌های طبیعی در رادیوتراپی سر و گردن از طریق مدل Lyman. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۳۹): ۹۴۵-۹۵۴

- ۱- دانشیار، گروه فیزیک و تصویر برداری پزشکی، مرکز تحقیقات سالیب تومور، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
  - ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیک و تصویر برداری پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
  - ۳- متخصص رادیوتراپی، مرکز پژوهشی - درمانی امید، ارومیه، ایران
  - ۴- کارشناس ارشد، مرکز پژوهشی - درمانی امید، ارومیه، ایران
  - ۵- دانشیار، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
- نویسنده‌ی مسؤؤل: دکتر نصراله جباری
- Email: Jabbari.n@umsu.ac.ir

## مقدمه

سرطان‌های سر و گردن، ۵-۲ درصد سرطان‌های بدن را در بر می‌گیرند که این مقادیر، در برخی کشورها بالاتر است. برای نمونه، در کشور هند، در حدود ۵۰ درصد سرطان‌های بدن را سرطان‌های دارای منشأ دهانی و گلو تشکیل می‌دهند. این تومورها، به طور کلی، در مردان نسبت به زنان شایع‌تر هستند، اما این نسبت در برخی بخش‌های دهان معکوس می‌شود. سن ابتلا، به طور معمول، بالای ۴۰ سال گزارش شده است. سرطان سر و گردن حدود ۶ درصد تومورهای توپر را شامل می‌شود. حدود ۶۵۰۰۰۰ سرطان سر و گردن جدید هر ساله شناخته می‌شود و سالانه، ۳۵۰۰۰۰ مورد مرگ در سراسر جهان گزارش می‌گردد. سرطان سر و گردن ششمین نوع رایج سرطان در جهان می‌باشد (۱).

اسکواموس سل کارسینوما سر و گردن (SCC یا Squamous cell carcinoma) یک مشکل بزرگ جهانی برای سلامت است و ۶ درصد کل سرطان‌ها را تشکیل می‌دهد. با وجود پیشرفت در درمان این سرطان‌ها، در چهار دهه‌ی گذشته، بهبودی اندکی در بقای ۵ ساله دیده شده است؛ به طوری که در بیشتر کشورها، میزان بروز بیماری و مرگ و میر ناشی از SCC سر و گردن در چهار دهه‌ی گذشته ثابت بوده و یا افزایش یافته است. همچنین، شیوع SCC سر و گردن به ویژه SCC زبان در کل جهان افزایش یافته است (۲).

اندازه‌ی میدان تابش در پرتودرمانی به طور معمول، بر اساس تجربه و اطلاعات بالینی انتخاب می‌شود. در واقع، پزشک انکولوژیست با اتکا به اطلاعات بالینی به دست آمده، ناحیه‌ی دوز دریافتی

بیمار را انتخاب می‌کند. این امر، سبب می‌شود تا تمام نواحی آناتومیک و فیزیولوژیک به طور صحیح در معرض دوز تابشی قرار نگیرند (۳).

در پرتودرمانی، نتایج درمان با دو پارامتر احتمال کنترل تومور (TCP یا Tumor control probability) و احتمال عوارض بافت‌های طبیعی (NTCP یا Normal tissue complication probability) مشخص می‌شود. TCP، بیانگر مقدار دوز رسیده به حجمی از تومور می‌باشد که می‌تواند باعث کنترل تومور شود و NTCP، بیانگر مقدار دوز رسیده به حجمی از بافت طبیعی نسبت به کل حجم درمان می‌باشد که احتمال عوارض بافت طبیعی را می‌تواند در بر داشته باشد (۴).

امروزه، تجهیزات و پیشرفت‌های تکنولوژی سبب شده است تا پزشک رادیوتراپیست، نقشه‌ی درمان را توسط سیستم‌های طراحی درمان کامپیوتری مشخص نماید و دوز بهینه را بر اساس هدف از بین بردن تومور و حفظ بافت‌های طبیعی انتخاب کند (۵). یکی از جدیدترین این اجزاء، هیستوگرام دوز حجمی (DVH یا Dose volume histogram) می‌باشد. به کمک تصاویر CT (Computed tomography) می‌توان توزیع دوز در یک حجم را بر روی نمودار DVH نشان داد. در ارزیابی طراحی درمان توسط DVH، نمودارها می‌توانند به دو صورت تجمعی یا تفاضلی مورد ارزیابی قرار گیرند. به کمک نمودار دوز حجمی، می‌توان داده‌های به دست آمده در روش‌های مختلف طراحی درمان را ارزیابی کرد (۶).

دو نوع مدل مهم را برای NTCP می‌توان در نظر گرفت. مدل‌های بر مبنای دوز-حجمی (DVH) که تنها با یک پارامتر مشخص می‌شوند (به عنوان مثال، حجم تحت تابش با دوز معین) و مدل‌های EUD

$$x = \frac{(D - D_{50})}{m \cdot D_{50}} \quad (4)$$

$D_{50}$  در معادله‌ی (۴) دوزی است که سبب ۵۰ درصد احتمال عارضه برای حجمی می‌شود که تحت تابش غیر یکنواخت قرار می‌گیرد.  $m$  پارامتری است که شیب منحنی پاسخ دوز برای اندام را مشخص می‌کند.

در سال‌های اخیر، مدل‌هایی برای ارزیابی اثرات بیولوژیکی طراحی درمان در نظر گرفته شده است. در این زمینه، تلاش‌هایی جهت رسیدن به فرمول جدید و ساده‌ی ارزیابی گسترده‌ی مدل‌های NTCP صورت گرفته است. جهت تعیین NTCP از روی تابش جزیی، مدل احتمال انحراف از میانگین Lyman و برای موارد عمومی تابش ناهمگن اعضا، مدل LKB (Lyman-Kutcher-Burman) معرفی شده است (۱۱).

در رادیوتراپی، همواره بایستی نسبت سود به ضرر مورد بررسی قرار گیرد. در برخی موارد، می‌توان سود حاصل را به ضررش ترجیح داد؛ در حالی که در مواردی، پذیرش ضرر حاصل عاقلانه نیست. به عنوان مثال، هنگام رادیوتراپی موضعی سرطان پستان، بافت‌های طبیعی پستان و قلب نیز مورد تابش قرار می‌گیرند (۱۲). بنابراین، بررسی احتمال عوارض بافت‌های طبیعی در رادیوتراپی با توجه به شرایط درمان و خصوصیات شخصی هر بیمار، می‌تواند گروه درمان را در به دست آوردن طرح درمان مناسب برای هر بیمار، کمک کند.

طی مطالعه‌ی حاضر، بر اساس نوع تومور سر و گردن، شدت بیماری، مقدار دوز تابشی کل و مقدار دوز در هر جلسه‌ی درمان، احتمال عوارض بافت‌های طبیعی سر و گردن از طریق مدل Lyman سیستم طراحی درمان CorePlan به دست آمد.

(Equivalent uniform dose) که تحت عنوان دوز معادل یکنواخت، طبق معادله‌ی (۱) تعریف می‌شوند.

$$EUD = f^{-1}(\sum_i v_i f(D_i)) \quad (1)$$

$D_i$  و  $V_i$  دوز و حجم محاسبه شده‌ی DVH و تابع  $f$  وابسته به مدل است (۷).

DVH و EUD دو روش مناسب جهت تعیین داده‌های دوز جذبی ناشی از پراکندگی سه بعدی می‌باشند (۸).

NTCP را می‌توان بر اساس مدل‌های رادیوبیولوژیکی و داده‌های ثبت شده‌ی دوزیمتری و دوز تجویز شده، پیش‌بینی کرد. اثر بیولوژیکی، بر اساس آمار و ریاضیات همچون مدل‌های رادیوبیولوژیکی از جمله مدل خطی-درجه‌ی دو (LQ یا Linear quadratic) ارزیابی می‌شوند. فرمول اصلی Linear quadratic به شرح زیر می‌باشد:

$$S = \exp[-(\alpha D + \beta D^2)] \quad (2)$$

$\alpha$  و  $\beta$  پارامترهای ثابت بافت  $S$  نسبت بقای سلول و  $D$  کل دوز آزاد شده می‌باشد (۹).

مدل LQ رایج‌ترین مدل جهت بررسی اثرات ترمیم میان جلسات درمان است. مدل LQ بر مبنای منحنی‌های بقای سلول‌های کلونی‌زا و پارامترهای نسبت حساسیت پرتویی  $\alpha/\beta$  پایه‌گذاری شده است و تعیین کننده‌ی اثرات آسیب‌های غیر قابل ترمیم و اثرات قابل ترمیم بعد از تابش‌دهی تومور است (۱۰). محاسبه‌ی NTCP، می‌تواند با استفاده از مدل Lyman که بر شکل سیگموییدی پاسخ حجم تحت تابش با دوز  $D$  متکی است، به دست آید. در مدل Lyman، NTCP مطابق با رابطه‌ی (۳) به دست می‌آید.

$$NTCP = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^t e^{-\frac{x^2}{2}} dx = \frac{1}{2} \left[ 1 + \operatorname{erf}\left(\frac{x}{\sqrt{2}}\right) \right] \quad (3)$$

## روش‌ها

در این تحقیق، تمام بیماران مبتلا به انواع سرطان‌های سر و گردن مراجعه کننده به مرکز پژوهشی- درمانی امید ارومیه در طول سال‌های ۹۳-۱۳۹۰ که طرح درمانی رادیوتراپی آن‌ها روی سیستم طراحی درمان CorePlan مورد استفاده در این مرکز وجود داشت، وارد مطالعه شدند. از ۷۸ بیمار مبتلا به سرطان سر و گردن که در طی سه سال گذشته دوره‌ی درمانشان به پایان رسیده بود، استفاده گردید. بیماران مورد مطالعه، در رده‌های سنی ۸۵-۱۸ سال قرار داشتند.

در این تحقیق، از اطلاعات موجود در سیستم طراحی درمان CorePlan که برای هر بیمار مورد مطالعه موجود بود، استفاده شد. همچنین، چک لیستی طراحی شد که در آن اطلاعات دموگرافیک و درمانی بیماران (شامل جنس بیماران، ناحیه‌ی درمان، Stage سرطان، تکنیک درمان، دوز تجویزی و نوع درمان) منظور شد. در این مطالعه، بیماران بر اساس شاخص‌های پیش‌گفته تقسیم‌بندی شدند. به طور کلی، برای تمامی بیماران مورد مطالعه، داده‌های تحقیق از روی طرح‌های درمانی رادیوتراپی موجود در سیستم طراحی درمان CorePlan و پرونده‌ی درمانی آن‌ها استخراج گردید. در این مطالعه، دوز پرتوئی مورد استفاده برای بیماران ۷۰۰۰-۳۰۰۰ سانتی‌گری بود.

در نهایت، احتمال آسیب به بافت‌های طبیعی در محدوده‌ی تابش، از روی مقدار دوز رسیده به حجم‌های مورد نظر و همچنین، اندازه‌ی حجم تحت تابش آن‌ها با استفاده از مدل آماری به کار رفته در NTCP سیستم طراحی درمانی CorePlan (مدل

Lyman) تعیین شد. بدین منظور، ارتباط هر یک از پارامترهای ذکر شده، با احتمال عوارض بافت‌های طبیعی مشخص گردید.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد. از آمارهای توصیفی مانند میانگین و نسبت‌ها برای توصیف داده‌ها و همچنین آزمون‌های Kruskal-Wallis, Mann-Whitney و ضریب همبستگی Spearman استفاده گردید.

## یافته‌ها

در این مطالعه، ۷۸ بیمار شرکت داشتند که از این تعداد، ۶۱/۵ درصد را زنان و ۳۸/۵ درصد را مردان تشکیل دادند. تومورهای این بیماران، به چهار Stage شامل  $T_1$ ،  $T_2$ ،  $T_3$  و  $T_4$  طبقه‌بندی شده است که Stage تومور ۱۷ نفر آنان  $T_1$ ، ۲۷ نفر آنان  $T_2$ ، ۲۴ نفر آنان  $T_3$  و ۱۰ نفر آنان  $T_4$  می‌باشد. درصد Stage هر تومور در جدول ۱ آمده است. کم‌سن‌ترین این بیماران ۱۸ سال و مسن‌ترین آنان ۸۵ سال سن داشتند. در این تحقیق، کل بیماران مورد مطالعه بر حسب سن به دو دسته‌ی بیماران زیر ۴۰ سال و بالای ۴۰ سال تقسیم شدند. در جدول ۱، مشخصات دموگرافیکی و درمانی بیماران مورد مطالعه آمده است.

تومورها در بیماران مورد مطالعه از لحاظ موقعیت به پنج ناحیه‌ی گردن، حنجره، سر، نازوفارینکس و سوپراگلوتیک طبقه‌بندی شدند. ۴۷/۴ درصد تومورها در موقعیت گردن، ۱۶/۷ درصد در موقعیت حنجره، ۱۱/۵ درصد در موقعیت سر، ۱۲/۸ درصد در موقعیت نازوفارینکس و ۱۱/۵ درصد تومورها در موقعیت سوپراگلوتیک قرار داشتند.



مشاهده گردید؛ در حالی که برای احتمال عارضه‌ی تیروئید، پاروتید راست و چپ و نیز لنز راست و چپ،  $P < 0/001$ ؛ برای احتمال عارضه‌ی ساب مندیبل راست،  $P = 0/001$  و برای احتمال عارضه‌ی ساب مندیبل چپ،  $P = 0/004$  بود (جدول ۲).

مطابق با جدول ۲، ارتباط تابش‌گیری تیروئید با احتمال عارضه‌ی آن معنی‌دار بود. تابش‌گیری غده‌ی پاروتید راست با احتمال عارضه‌ی پاروتید راست و چپ و همچنین لنز چپ و تابش‌گیری غده‌ی پاروتید چپ با احتمال عارضه‌ی تیروئید و غده‌ی پاروتید چپ نیز ارتباط معنی‌دار داشت. رابطه‌ی تابش‌گیری غده‌ی ساب مندیبل راست تنها با احتمال عارضه‌ی آن و تابش‌گیری غده‌ی ساب مندیبل چپ نیز تنها با احتمال عارضه‌ی آن، معنی‌دار بود. ارتباط تابش‌گیری لنز راست با احتمال عارضه‌ی لنز راست و چپ و همچنین، تابش‌گیری لنز چپ با احتمال عارضه‌ی لنز راست و چپ معنی‌دار بود.

در مطالعه‌ی حاضر، بین موقعیت تومور و احتمال عارضه‌ی تمامی بافت‌های طبیعی مجاور، ارتباط معنی‌دار با  $P < 0/050$  مشاهده گردید. در حالی که هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری بین Stage تومور و نوع درمان با احتمال عارضه‌ی بافت‌های طبیعی دیده نشد. مطابق با جدول ۳، افزایش دوز با احتمال عارضه‌ی تیروئید، ارتباط معنی‌داری داشت. در جدول ۳، ارتباط بین سن، جنس، نوع درمان بیماران و Stage تومور با احتمال عارضه‌ی هر یک از بافت‌های طبیعی آمده است.

در جدول ۴، بر اساس آزمون همبستگی Spearman، احتمال عارضه‌ی هر یک از بافت‌های طبیعی آمده است. بر اساس این جدول، بیشترین

درمان بیماران به سه دسته‌ی رادیوتراپی، رادیوتراپی و شیمی‌درمانی، رادیوتراپی و جراحی طبقه‌بندی شد. از این تعداد ۵۶/۴ درصد درمان‌ها به طریق رادیوتراپی، ۳۰/۸ درصد درمان‌ها به طریق رادیوتراپی و شیمی‌درمانی، ۱۲/۸ درصد درمان‌ها به طریق رادیوتراپی و شیمی‌درمانی انجام شد.

جدول ۱. مشخصات دموگرافیکی و درمانی بیماران مورد مطالعه

جنسیت	تعداد بیماران = ۷۸	تعداد (درصد)
زن	۳۰	(۳۸/۵)
مرد	۴۸	(۶۱/۵)
ناحیه‌ی تومور	گردن	۳۷ (۴۷/۴)
	حنجره	۱۳ (۱۶/۷)
	سر	۹ (۱۱/۵)
	نازوفارینکس	۱۰ (۱۲/۸)
	سوپراگلوتیک	۹ (۱۱/۵)
Stage تومور	T <sub>۱</sub>	۱۷ (۲۱/۸)
	T <sub>۲</sub>	۲۷ (۳۴/۶)
	T <sub>۳</sub>	۲۴ (۳۰/۸)
	T <sub>۴</sub>	۱۰ (۱۲/۸)
نوع درمان	رادیوتراپی	۴۴ (۵۶/۴)
	رادیوتراپی و شیمی‌درمانی	۲۴ (۳۰/۸)
	رادیوتراپی و جراحی	۱۰ (۱۲/۸)

کل دوز تابشی به این بیماران، از ۷۰۰۰-۳۰۰۰ سانتی‌گری تشکیل شده بود. به منظور طبقه‌بندی مناسب، دوزهای تجویزی به دو گروه دوزهای ۴۵۰۰-۳۰۰۰ سانتی‌گری و دوزهای ۷۰۰۰-۴۵۰۰ سانتی‌گری تقسیم شدند.

بین سن بیماران، جنسیت آنان و احتمال عوارض بافت‌های طبیعی، ارتباط معنی‌داری وجود نداشت. بین تابش‌گیری تیروئید و احتمال عوارض بافت‌های طبیعی (تیروئید، پاروتید راست و چپ، ساب مندیبل راست و چپ، لنز راست و چپ) ارتباط معنی‌داری

نشد. همچنین، بین جنسیت بیماران و احتمال عوارض بافت‌های طبیعی نیز ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد. بین این نتایج و نتایج حاصل از مطالعه‌ی Sherman و همکاران تطابق وجود داشت (۱۳).

در مطالعه‌ی حاضر، بین موقعیت تومور و احتمال عارضه‌ی تمامی بافت‌های طبیعی مجاور، ارتباط معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/050$ ) که با نتایج Borggreven و همکاران مطابقت داشت (۱۴). در حالی که، هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری بین Stage تومور و نوع درمان با احتمال عارضه‌ی بافت‌های طبیعی دیده نشد ( $P > 0/050$ )؛ که با نتایج حاصل از مطالعات صورت گرفته همخوانی دارد (۱۵).

مقدار همبستگی Spearman متعلق به بافت‌های طبیعی مجاور هم بود. گستره‌ی ضریب همبستگی بافت‌های طبیعی از بیشترین مقدار ( $r_s = 0/870$ ) برای همبستگی احتمال عارضه‌ی لنز راست و لنز چپ و همبستگی احتمال عارضه‌ی غده‌ی پاروتید راست و چپ تا کمترین مقدار ( $r_s = -0/520$ ) برای همبستگی احتمال عارضه‌ی غده‌ی پاروتید راست و تیروئید بود.

### بحث

در این مطالعه، بین گروه سنی بیماران و احتمال عوارض بافت‌های طبیعی، ارتباط معنی‌داری مشاهده

جدول ۲. ارتباط تابش‌گیری بافت‌های طبیعی با احتمال عارضه‌ی هر یک از بافت‌های طبیعی

مقدار P							ارگان‌های در معرض تابش
لنز چپ	لنز راست	غده‌ی ساب مندیبل چپ	غده‌ی ساب مندیبل راست	غده‌ی پاروتید چپ	غده‌ی پاروتید راست	تیروئید	
0/820	0/340	0/510	0/210	0/410	0/310	< 0/001	تیروئید
0/022	0/245	0/210	0/008	0/140	< 0/001	0/130	غده‌ی پاروتید راست
0/063	0/148	0/103	0/450	< 0/001	0/080	0/0100	غده‌ی پاروتید چپ
0/304	0/361	0/120	< 0/001	0/053	0/075	0/880	غده‌ی ساب مندیبل راست
0/369	0/433	< 0/001	0/230	0/024	0/520	0/530	غده‌ی ساب مندیبل چپ
< 0/001	< 0/001	0/563	0/472	0/151	0/197	0/780	لنز راست
< 0/001	< 0/001	0/511	0/422	0/052	0/071	0/810	لنز چپ

جدول ۳. ارتباط اطلاعات دموگرافیکی و درمانی بیماران با احتمال عوارض بافت‌های طبیعی

مقدار P مربوط به NTCP در نواحی مختلف							مشخصات دموگرافیکی و درمانی بیماران
لنز چپ	لنز راست	غده‌ی ساب مندیبل چپ	غده‌ی ساب مندیبل راست	پاروتید چپ	پاروتید راست	تیروئید	
0/873	0/469	0/545	0/267	0/194	0/269	0/004	مقدار دوز دریافتی
0/126	0/140	0/720	0/139	0/839	0/770	0/139	سن بیماران
0/467	0/771	0/413	0/810	0/290	0/171	0/552	جنس بیماران
0/777	0/189	0/905	0/466	0/518	0/312	0/610	نوع درمان بیماران
0/539	0/292	0/942	0/549	0/108	0/122	0/951	Stage تومور

NTCP: Normal tissue complication probability

جدول ۴. ضریب همبستگی Spearman احتمال عوارض بافت‌های طبیعی در رادیوتراپی سر و گردن

لنز چپ	لنز راست	غده‌ی ساب		پاروتید		NTCP نواحی مختلف	
		غده‌ی ساب مندیل چپ	غده‌ی ساب مندیل راست	پاروتید چپ	پاروتید راست	تیروئید	NTCP نواحی مختلف
						۱/۰۰	تیروئید
						۱/۰۰	پاروتید راست
			۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۸۷	-۰/۵۲	پاروتید چپ
			۱/۰۰	۰/۳۴	۰/۳۲	-۰/۳۳	غده‌ی ساب مندیل راست
		۱/۰۰	۰/۷۹۵	۰/۲۹	۰/۲۶	-۰/۳۰	غده‌ی ساب مندیل چپ
	۱/۰۰	-۰/۰۸	-۰/۰۹	۰/۱۶	۰/۰۷	-۰/۴۳	لنز راست
۱/۰۰	۰/۸۷	-۰/۰۹	-۰/۱۰	۰/۲۲	۰/۲۲	-۰/۴۶	لنز چپ

NTCP: Normal tissue control probability

تطابق بیشتر دوز با تومور و حفظ بافت‌های طبیعی گردیده است (۱۹).

یکی از مهم‌ترین جنبه‌های رادیوتراپی با پروتون که هنوز اثرات بالینی آن مورد ارزیابی قرار نگرفته است، امتیاز بیولوژیکی استفاده از پراکندگی ناهمگن دوز فضایی و زمانی می‌باشد. بر اساس مطالعات رادیوبیولوژیکی، پراکندگی یکنواخت دوز زمانی، اغلب مانعی در رسیدن به هدف بیشینه TCP و کمینه NTCP می‌باشد (۲۰).

پروتودرمانی با استفاده از  $4\pi$  می‌تواند سبب حفظ اعضای بحرانی و تصحیح کنترل تومور گردد (۱۸). HT (Helical tomotherapy) نیز دوز را به حجم هدف متمرکز می‌کند و سبب حفظ اعضای بحرانی می‌شود (۱۷).

رادیوتراپی مدرن، جهت رسیدن به بهترین نتایج درمان نیازمند تجهیزات و راهبردهای مناسب درمان می‌باشد. با استفاده از اطلاعات رادیوبیولوژیکی، می‌توان در آینده‌ای نزدیک، به مدل‌های مناسب رادیوتراپی دست یافت (۲۱). بهینه‌سازی مدالیته‌های رادیوتراپی، می‌تواند زمینه‌ی رسیدن به پروتکل‌های رادیوتراپی مختص هر بیمار را فراهم سازد (۲۲).

بر اساس این مطالعه، احتمال عارضه‌ی بافت‌های طبیعی به شدت تحت تأثیر تابش‌گیری بافت‌های طبیعی قرار دارد. این نتیجه، با یافته‌ی مطالعه‌ی McGinn و همکاران مبنی بر وجود ارتباط معنی‌دار بین پرتوی تابشی و خطر تابش بافت‌های طبیعی مجاور در دوزهای بالای ۳۳-۶۶ گری، مطابقت داشت (۱۵). طی مطالعه‌ی، Kukolowicz نیز بیان کرد که احتمال عارضه‌ی بافت‌های طبیعی تحت مقدار دوز دریافتی بود. همانند نتایج تحقیق حاضر، بر اساس مطالعه‌ی وی نیز طراحی درمان مناسب بر روی احتمال عارضه‌ی بافت‌های طبیعی تأثیر بسیاری داشت (۱۶).

در حال حاضر، مطالعات بسیاری در جهت کاهش احتمال عارضه‌ی بافت‌های طبیعی در حال انجام می‌باشد که این امر، بیانگر اهمیت موضوع و فراهم آوردن تکنیک‌ها و روش‌های جدید جهت کاهش احتمال عارضه‌ی بافت‌های طبیعی بیماران پس از گذراندن دوره‌ی درمان می‌باشد (۱۸-۱۷).

پیشرفت تکنیک‌های پرتوتابی مانند ۳D-CRT (۳D-conformal radiotherapy) و IMRT (Intensity-modulated radiation therapy) منجر به

## تشریح و قدردانی

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ارومیه جهت تأمین هزینه‌ی اجرای طرح و همچنین

از مدیریت و تمامی پزشکان و کارکنان مرکز پژوهشی درمانی امید ارومیه که در انجام این پروژه همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

## References

1. Howren MB, Christensen AJ, Karnell LH, Funk GF. Psychological factors associated with head and neck cancer treatment and survivorship: evidence and opportunities for behavioral medicine. *J Consult Clin Psychol* 2013; 81(2): 299-317.
2. Mork J, Lie AK, Glatte E, Hallmans G, Jellum E, Koskela P, et al. Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2001; 344(15): 1125-31.
3. Marks LB, Yorke ED, Jackson A, Ten Haken RK, Constine LS, Eisbruch A, et al. Use of normal tissue complication probability models in the clinic. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 76(3 Suppl): S10-S19.
4. Keinj R, Bastogne T, Vallois P. Multinomial model-based formulations of TCP and NTCP for radiotherapy treatment planning. *J Theor Biol* 2011; 279(1): 55-62.
5. Holloway L, Hoban P, Metcalfe P. Radiobiological indices that consider volume: a review. *Australas Phys Eng Sci Med* 2002; 25(2): 47-57.
6. Rawlings KM. Key performance indicators for goal attainment in dairy farming: essential elements for monitoring farm business performance [MSc Thesis]. Palmerston North, New Zealand: Massey University; 1999.
7. Hussein M, Aldridge S, Guerrero UT, Nisbet A. The effect of 6 and 15 MV on intensity-modulated radiation therapy prostate cancer treatment: plan evaluation, tumour control probability and normal tissue complication probability analysis, and the theoretical risk of secondary induced malignancies. *Br J Radiol* 2012; 85(1012): 423-32.
8. Cheng L, Hobbs RF, Segars PW, Sgouros G, Frey EC. Improved dose-volume histogram estimates for radiopharmaceutical therapy by optimizing quantitative SPECT reconstruction parameters. *Phys Med Biol* 2013; 58(11): 3631-47.
9. Jones L, Hoban P, Metcalfe P. The use of the linear quadratic model in radiotherapy: a review. *Australas Phys Eng Sci Med* 2001; 24(3): 132-46.
10. Harvey EB, Brinton LA. Second cancer following cancer of the breast in Connecticut, 1935-82. *Natl Cancer Inst Monogr* 1985; 68: 99-112.
11. Trott KR, Doerr W, Facoetti A, Hopewell J, Langendijk J, van Luijk P, et al. Biological mechanisms of normal tissue damage: importance for the design of NTCP models. *Radiother Oncol* 2012; 105(1): 79-85.
12. Neglia JP, Friedman DL, Yasui Y, Mertens AC, Hammond S, Stovall M, et al. Second malignant neoplasms in five-year survivors of childhood cancer: childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93(8): 618-29.
13. Sherman AC, Simonton S, Adams DC, Vural E, Owens B, Hanna E. Assessing quality of life in patients with head and neck cancer: cross-validation of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Quality of Life Head and Neck module (QLQ-H&N35). *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 126(4): 459-67.
14. Borggreven PA, Verdonck-de Leeuw IM, Muller MJ, Heiligers ML, de Bree R, Aaronson NK, et al. Quality of life and functional status in patients with cancer of the oral cavity and oropharynx: pretreatment values of a prospective study. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007; 264(6): 651-7.
15. McGinn CJ, Ten Haken RK, Ensminger WD, Walker S, Wang S, Lawrence TS. Treatment of intrahepatic cancers with radiation doses based on a normal tissue complication probability model. *J Clin Oncol* 1998; 16(6): 2246-52.
16. Kukolowicz P. Clinical aspects of normal tissue complication probability. *Rep Pract Oncol Radiother* 2004; 9(6): 261-7.
17. Vernat SS, Ali D, Messina C, Pommier P, Dussart S, Puyraveau M, et al. Intensity modulated arc therapy in bilaterally irradiated head and neck cancer: a comparative and prospective multicenter planning study. *Cancer Invest* 2014; 32(5): 159-67.
18. Sheng K, Dong P, Gautam A, Cheng CW, Ruan D, Low D, et al. Evolution of ipsilateral head and neck radiotherapy. *Current Cancer Therapy Reviews* 2014; 10(4): 343-52.

19. van de Water TA, Bijl HP, Schilstra C, Pijls-Johannesma M, Langendijk JA. The potential benefit of radiotherapy with protons in head and neck cancer with respect to normal tissue sparing: a systematic review of literature. *Oncologist* 2011; 16(3): 366-77.
20. Zeng C, Giantsoudi D, Grassberger C, Goldberg S, Niemierko A, Paganetti H, et al. Maximizing the biological effect of proton dose delivered with scanned beams via inhomogeneous daily dose distributions. *Med Phys* 2013; 40(5): 051708.
21. El N, I, Pater P, Seuntjens J. Monte Carlo role in radiobiological modelling of radiotherapy outcomes. *Phys Med Biol* 2012; 57(11): R75-R97.
22. Wang W, Lang J. Strategies to optimize radiotherapy based on biological responses of tumor and normal tissue. *Exp Ther Med* 2012; 4(2): 175-80.

## Effects of Treatment Strategies and Demographic Characteristics on Normal Tissue Complication Probability in Head and Neck Radiotherapy Using the Lyman Model

Nasrollah Jabbari PhD<sup>1</sup>, Seyed Reza Mousavi<sup>2</sup>, Omid Esnaashari MD<sup>3</sup>, Mehdi Aghdasi MSc<sup>4</sup>,  
Hamid Reza Khalkhali PhD<sup>5</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** This study aimed to evaluate the effects of treatment strategies and patients' demographics characteristics on normal tissue complication probability in head and neck radiotherapy using the Lyman model.

**Methods:** 78 patients with head and neck cancers who had finished their period of treatment in the last three years were investigated. The available information in the CorePlan treatment Planning system for each patient was gathered. Finally, the normal tissue complication probability (NTCP) was determined from the dose received to the target volume and the irradiated volume using statistical model used in the CorePlan treatment planning system (Lyman model). In this work, descriptive statistics such as mean and proportion was applied to describe the data and Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, and Spearman correlation-coefficient test also were employed.

**Findings:** The normal tissue complication probability was found to be strongly influenced by the position of normal tissues to radiation. In addition, a significant relationship was observed between the tumor and its adjacent normal tissues ( $P < 0.050$ ). Complication risk of thyroid and dose increase was significantly correlated ( $P = 0.004$ ). There was no significant relationship between the age group, sex, stage of tumor, treatment type and normal tissue complication probability ( $P > 0.050$ ).

**Conclusion:** According to our findings, there was a significant relationship between the tumor location and the normal tissue complication probability. Thus, optimization of treatment planning system and use of appropriate equipment are useful in improving the symptoms of head and neck cancer after radiotherapy. Using high-dose radiation for head and neck cancers should be evaluated to protect thyroid, especially when the tumor is in the neck.

**Keywords:** Radiotherapy, Head and neck cancer, Normal tissue complication Probability, Dose volume histogram

**Citation:** Jabbari N, Mousavi SR, Esnaashari O, Aghdasi M, Khalkhali HR. **Effects of Treatment Strategies and Demographic Characteristics on Normal Tissue Complication Probability in Head and Neck Radiotherapy Using the Lyman Model.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(339): 945-54

1- Associate Professor, Department of Medical Physics and Imaging, Solid Tumor Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

2- MSc Student, Department of Medical Physics and Imaging, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

3- Radiation Oncologist, Radiotherapy Research Center, Omid Hospital, Urmia, Iran

4- Radiotherapy Research Center, Omid Hospital, Urmia, Iran

5- Associate Professor, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

**Corresponding Author:** Nasrollah Jabbari PhD, Email: Jabbari.n@umsu.ac.ir

## بهینه‌سازی پارامترهای درمان تومورهای سارکوما بافت نرم به روش الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر

کریم قاضی‌خانلو ثانی<sup>۱</sup>، دکتر سید محمد فیروزآبادی<sup>۲</sup>، دکتر لیلا آقازوینی<sup>۳</sup>، دکتر حبیب اله محمودزاده<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**مقدمه:** الکتروپوریشن روشی مؤثر برای هدایت داروهای درمانی (از جمله داروهای شیمی درمانی) به داخل سلول‌های زنده است که به کاهش حجم و درمان مورد نظر در بافت می‌انجامد. کارایی این روش، وابسته به انتخاب بهینه پارامترهای شکل موج تخریک است. این مطالعه، در جهت بهینه‌سازی پارامترهای درمان تومورهای سارکوم بافت نرم با روش الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر انجام گرفت.

**روش‌ها:** هندسه بافت و تومور در نرم‌افزار Mimics از تصاویر MRI (Magnetic resonance imaging) تومور و بافت‌های سالم اطراف آن استخراج شد. سپس، با استفاده از نرم‌افزار CAD-fix، تبدیل هندسه حاصل از نرم‌افزار Mimics به هندسه قابل استفاده در نرم‌افزار المان محدود (COMSOL Multiphysics) انجام شد. به منظور حل معادلات مربوط (معادله Laplace و معادله بیوگرایی) به روش المان محدود، از نرم‌افزار FEMLAB نسخه ۴/۴ استفاده شد. همچنین، از FEMLAB جهت برآورد توابع هدف در قسمت بهینه‌سازی نیز استفاده شد و به منظور بهینه‌سازی هندسه الکترودهای مورد استفاده در الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر، از الگوریتم ژنتیک بهره جستیم. کد الگوریتم ژنتیک با استفاده از نرم‌افزار MATLAB نسخه ۷.۱۰.۰ نگارش شد.

**یافته‌ها:** شدت میدان الکتریکی اعمالی به تومور با افزایش ولتاژ اعمالی به الکترودها افزایش یافت و بیشترین شدت توزیع میدان الکتریکی، با اختلاف پتانسیل ۴۰۰۰ ولتی مشاهده شد. با تغییر عمق ورود الکترودها در بافت، فاصله بین الکترودها و همچنین ضخامت الکترودها، میانگین شدت میدان الکتریکی توزیعی در بافت دچار تغییر شد. با وجود میدان الکتریکی بالا در ناحیه تومورال، میانگین توزیع حرارتی در تومور فقط در حد چند درجه سانتی‌گراد نسبت به حالت معمول (۳۷ درجه سانتی‌گراد) افزایش یافت؛ گرچه در نقاط نزدیک به انتهای الکترودها، امکان افزایش حرارت تا ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد نیز بود.

**نتیجه‌گیری:** با استفاده از مدل‌سازی عددی و لحاظ هندسه واقعی بافت و تومور می‌توان پارامترهای بهینه مؤثر در درمان‌های الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر را برای کنترل رشد تومور و کنترل آسیب به بافت‌های سالم محاسبه کرد.

**واژگان کلیدی:** الکتروپوریشن، مدل‌سازی عددی، المان محدود، الگوریتم ژنتیک

**ارجاع:** قاضی‌خانلو ثانی کریم، فیروزآبادی سید محمد، آقازوینی لیلا، محمودزاده حبیب اله. بهینه‌سازی پارامترهای درمان تومورهای سارکوما بافت نرم به روش الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۳۹): ۹۶۹-۹۵۵

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه رادیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴- استادیار، گروه جراحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

## مقدمه

سارکوم بافت نرم، توده ی بدخیمی است که در داخل بافت نرم رشد می‌کند (۱). سارکوم، بافت‌های اطراف را مورد تهاجم قرار می‌دهد و قادر به ایجاد متاستاز و تشکیل تومورهای ثانویه است. سلول تومورهای ثانویه، مشابه سرطان اولیه است و تحت عنوان سارکوم متاستاتیک بافت نرم نامیده می‌شود (۲-۳). سارکوم بافت نرم در هر نقطه از بدن می‌تواند بروز کند. حدود ۵۰ درصد در اندام‌های تحتانی (بازوها، ساق‌ها، دست‌ها و پاها) ظاهر می‌شود و ۴۰ درصد در تنه (سینه، پشت، ران، شانه و شکم) ظاهر می‌شود و ۱۰ درصد در سر و گردن ایجاد می‌شود. سارکوماهای بافت نرم، شیوع بالایی ندارند و سالانه کمتر از ۱ درصد کل موارد جدید سرطان‌ها را شامل می‌شوند (۴، ۲). روش‌های درمانی سارکوم بافت نرم شامل جراحی، رادیوتراپی و شیمی‌درمانی است (۴).

درمان‌های پیش‌گفته، با وجود مؤثر بودن در کنترل و درمان تومور، منجر به بروز اثرات جانبی ناخواسته‌ای می‌شود که گاهی اثرات درمانی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در هر سه روش درمانی، تلاش بر این است که روش نوینی معرفی شود که حداقل اثر جانبی را به بیمار تحمیل کند. در راستای این هدف، الکتروکموتراپی (تلفیقی از پالس‌های الکتریکی بسیار کوتاه و شیمی‌درمانی) برای کاهش اثرات سمی داروهای شیمی‌درمانی در بافت‌های سالم معرفی شده است. به کمک این روش، نیازی به توزیع سیستمیک داروهای شیمی‌درمانی نیست. در حضور میدان الکتریکی، حفره‌هایی در غشای سلول ایجاد می‌شود و منجر به افزایش نفوذ داروی شیمی‌درمانی به درون سلول می‌شود که به این پدیده،

الکتروپوریشن اطلاق می‌شود (۵).

اگر این میدان کوچک‌تر از یک حد آستانه باشد، این حفره‌ها بازگشت پذیر می‌شوند (الکتروپوریشن بازگشت پذیر) و اگر میدان بزرگ‌تر از حد آستانه باشد (الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر)، حفره دائمی خواهد بود و منجر به مرگ سلول می‌شود. در سال‌های اخیر، استفاده از الکتروپوریشن بازگشت پذیر در درمان سرطان از طریق الکتروکموتراپی، جای خود را به قطع تومور (Tumor ablation) به کمک الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر داده است (۷-۵).

روش اخیر، مزایای بسیاری نسبت به الکتروکموتراپی دارد که مهم‌ترین آن، عدم نیاز به تجویز داروی شیمی‌درمانی حتی به صورت موضعی است. با این حال، به دلیل استفاده از شدت میدان‌های الکتریکی قوی‌تر، امکان آسیب به بافت طبیعی وجود دارد. یکی از راه‌های کاهش آسیب به بافت سالم، بهینه‌سازی پارامترهای درمان برای تحمیل حداقل آسیب است (۶). برای این منظور، به طور معمول از روش مدل‌سازی عددی برای مشخص کردن توزیع حرارتی و میدان ناشی از یک سری پارامترهای خاص استفاده می‌شود (۸-۷).

Miklavcic و همکاران تشریح کردند که گستردگی میدان با شدت مناسب از میدان الکتریکی در تومور از عوامل بسیار مهم در پاسخ درمانی به شمار می‌رود (۸). مطالعات مختلفی نیز تا کنون بر روی تأثیر هندسه‌ی الکترودها و نحوه‌ی چینش آن‌ها صورت گرفته است (۹-۱۰). همچنین، Corovic و همکاران نشان دادند که ولتاژ اعمالی، فاصله‌ی بین الکترودها و عمق قرارگیری الکترودها، از عوامل بسیار مؤثر در نحوه‌ی توزیع میدان الکتریکی هستند (۱۰).



گر چه روش‌های سنتی می‌توانند به سرعت راه حل یک تابع تحلیلی با تعداد محدودی متغیر را پیدا کنند، اما بسیاری از مسایل دنیای واقعی این گونه نیستند و روش‌های سنتی نمی‌توانند آن‌ها را حل کنند. این در حالی است که وجود جمعیت بزرگی از راه حل‌ها باعث قدرتمند شدن الگوریتم ژنتیک می‌شود. به همین خاطر، الگوریتم ژنتیک روشی مطلوب برای انجام محاسبات موازی به شمار می‌رود (۱۲).

از آن جایی که پارامترهای تأثیرگذار بر توزیع مناسب میدان الکتریکی و گرمایی، از تنوع بالایی برخوردارند و توزیع میدان الکتریکی و گرمایی، تأثیر توأم بر معرفی یک چینش بهینه از الکترودها در درمان‌های الکتروپوریشن دارد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی پارامترهای بهینه برای توزیع مناسب میدان‌های الکتریکی و گرمایی، به منظور درمان تومورهای سارکومای بافت نرم به روش الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر انجام شد.

### روش‌ها

پس از مروری بر مطالعات در خصوص ویژگی‌های اختصاصی بیماران شرکت کننده در مطالعه، بیماران با اندازه‌ی تومور کوچک (کمتر از ۵ سانتی‌متر) و تومورهایی که به تازگی شکل گرفته‌اند و در گذشته، هیچ‌گونه درمان خاصی برای آن‌ها در نظر گرفته نشده بود، وارد مطالعه شدند. بنابراین، در مطالعه‌ی حاضر، از تصاویر و اندازه‌های هندسی تومور ۳ بیمار دارای تومور سارکومای بافت نرم با اندازه‌ی کمتر از ۵ سانتی‌متر که هیچ‌گونه درمان دارویی یا درمان‌های دیگر برای آن‌ها تجویز نشده بود، استفاده شد. از بین تومورهای تصویربرداری شده در مطالعه،

انجام موفقیت‌آمیز الکتروپوریشن به پیش‌بینی دقیق خصوصیات الکتریکی بافت هدف وابسته است، از این رو، درک توزیع فضایی و زمانی میدان الکتریکی در درون بافت هدف بسیار ضروری است (۱۱). همچنین، به دلیل تنوع بسیار زیاد در نحوه‌ی چینش الکترودها، هندسه و اندازه‌ی الکترودها، خصوصیات بیوالکتریکی الکترودها و بافت‌های بدن، انجام محاسبات تجربی در سطح وسیع مقدور نیست و اغلب از محاسبات عددی و شبیه‌سازی، به منظور بررسی این حالات استفاده می‌شود (۱۲).

با عنایت به موارد مطرح شده، به نظر می‌رسد بایستی چیدمان الکترودها برای درمان‌های الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر به منظور دستیابی به توزیع میدان الکتریکی و توزیع گرمایی مناسب در بافت سالم و تومورال مورد بازبینی قرار گیرد. متأسفانه، با وجود مطالعاتی که در زمینه‌ی توزیع میدان الکتریکی و توزیع گرمایی در حین الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر انجام گرفته است، مطالعه‌ی جامعی که این دو اثر را به طور هم‌زمان در نظر گرفته باشد، انجام نشده است. در حالی که بررسی هم‌زمان این دو اثر (گرمایی و الکتریکی) می‌تواند منجر به ارایه‌ی نتیجه‌ی بهتری در درمان‌های الکتروپوریشن شود (۷، ۹-۱۰).

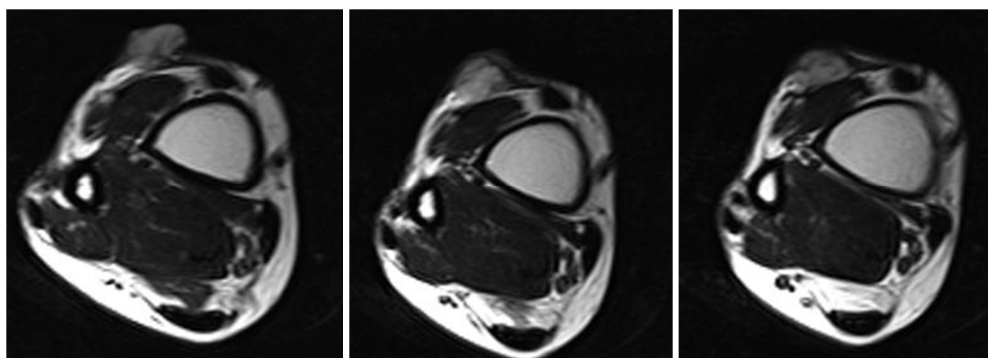
الگوریتم ژنتیک یک روش جستجو و بهینه‌سازی هوشمند است که بر اساس علم وراثت و انتخاب طبیعی بنیان شده است. الگوریتم ژنتیک با جمعیتی متشکل از تعداد زیادی فرد سر و کار دارد و افراد جمعیت را با استفاده از یک سری قواعد انتخابی خاص تکامل می‌دهد و موجب پیشینه‌سازی برآزش (یا به عبارت دیگر کمینه‌سازی تابع هزینه) می‌شود.

تهران گرفته شد. تصاویر MRI که در این مرحله، به منظور بررسی ناهمگونی بافت تهیه شد، شامل تصاویر  $T_1$  (Slice thickness = ۰/۹ mm, TR = ۲۳۰۰ ms, TE = ۴/۷۶ ms, FOV = ۲۴۰ mm, TI = ۱۱۰۰ ms) و  $T_2$  (Base resolution = ۲۵۶ و TR = ۳۸۰۰ ms, Slice thickness = ۵ mm, TE = ۹۲ ms, Base resolution = ۲۵۶ و FOV = ۲۴۰ mm) و  $T_2$ -fat saturation بود (شکل ۱).

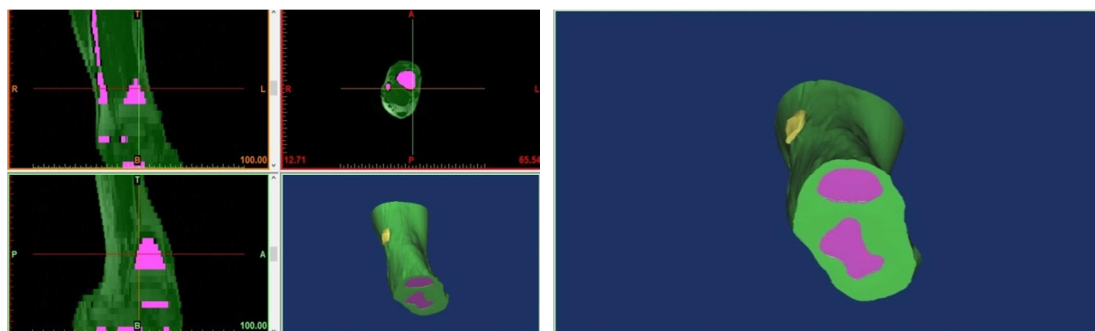
تعریف هندسه‌ی بافت و تومور در نرم‌افزار Mimics با توجه به تصاویر MRI تومور و بافت‌های سالم اطراف صورت گرفت. بدین صورت که ابتدا هندسه‌ی بافت و تومور با استفاده از نرم‌افزار Mimics بازسازی شد و با استفاده از تصاویر برشی  $T_1$  و  $T_2$  که بدون فاصله‌گذاری تهیه شده بودند، هندسه‌ی سه بعدی ساخته شد (شکل ۲).

یک تومور در انتهای ساعد، یک تومور بافت نرم در انتهای ساق پا و یک تومور در ناحیه‌ی ران پای راست بودند. همگی بیماران دارای این تومورها (دو بیمار آقا و یک بیمار خانم در محدوده‌ی سنی ۴۰-۵۰ سال) پس از هماهنگی با مرکز جراحی انکولوژی بیمارستان امام خمینی (ره) تهران و اخذ فرم رضایت آگاهانه، انتخاب شدند.

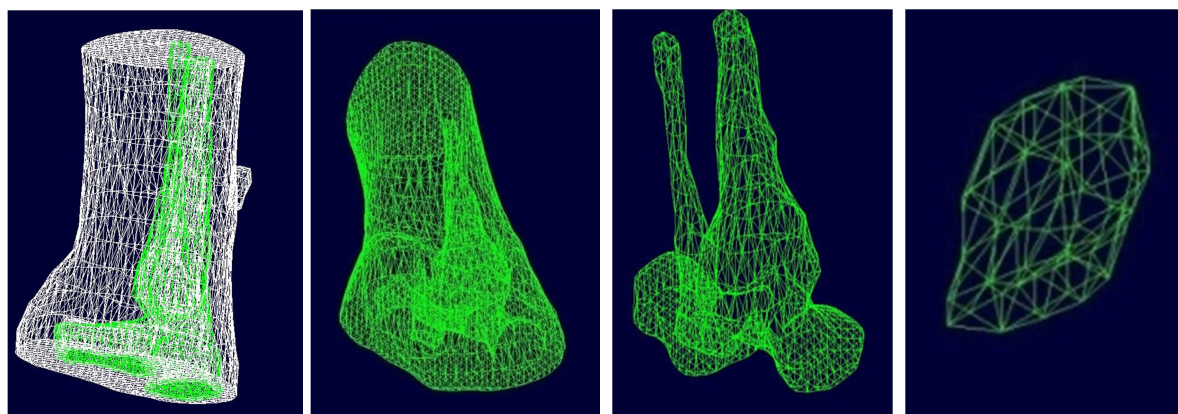
هندسه‌ی بافت و تومور با استفاده از تصاویر MRI (Magnetic resonance imaging) به دست آمد. به این ترتیب که از بیماران دارای تومورهای قابل درمان به روش الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر، به منظور به دست آوردن توپوگرافی از تومور و لایه‌های اطراف آن، تصویر MRI با استفاده از سیستم ۳ MRI تسلا (Trio, Siemens medical solutions, Erlangen, Germany) موجود در بیمارستان امام خمینی (ره)



شکل ۱. نمونه‌ای از تصاویر برشی MRI (Magnetic resonance imaging) تهیه شده از ناحیه‌ی تومورال



شکل ۲. نمایی از تعریف هندسه‌ی بافت و تومور در نرم‌افزار Mimics



شکل ۳. نمونه‌ای از هندسه‌ی به دست آمده از بافت تومورال (الف)، بافت سالم (ب) و استخوان‌ها (ج) توسط نرم‌افزار CADfix و Merge نمودن تصاویر به یکدیگر (د)

همچنین، از این نرم‌افزار جهت برآورد توابع هدف در قسمت بهینه‌سازی نیز استفاده گردید.

مطالعه‌ی پارامتریک بر روی پارامترهای هندسی و الکتریکی صورت گرفت. بدین منظور، در ابتدا معادلات حاکم بر مسأله، تبیین شد. مدل‌سازی در این تحقیق، به صورت الکتریکی و گرمایی انجام گرفت. برای حل قسمت الکتریکی مسأله، بایستی توزیع میدان الکتریکی و برای حل قسمت گرمایی، بایستی توزیع گرمایی در بافت محاسبه شود. برای حل قسمت الکتریکی از معادله‌ی Laplace  $\nabla \cdot (\sigma \cdot \nabla \phi) = 0$  استفاده شد.

معیار الکتروپوریت شدن بازگشت ناپذیر  $E_{irrev} = 900 \text{ V/cm}$  (آستانه‌ی شدت میدان الکتریکی اعمالی برای ایجاد الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر) و معیار الکتروپوریت شدن بازگشت پذیر  $E_{rev} = 400 \text{ V/cm}$  (آستانه‌ی شدت میدان الکتریکی اعمالی برای ایجاد الکتروپوریشن بازگشت پذیر) است. این مقادیر، به طور معمول برای شبیه‌سازی‌های انجام گرفته در تحقیقات الکتروپوریشن مورد استفاده

در مرحله‌ی بعدی با استفاده از نرم‌افزار CAD-fix تبدیل هندسه‌ی حاصل از نرم‌افزار Mimics به هندسه‌ی قابل استفاده در نرم‌افزار المان محدود (COMSOL Multiphysics) انجام شد؛ به طوری که به منظور ارسال داده‌های سه بعدی حاصل از نرم‌افزار Mimics به نرم‌افزار Comsol و تبدیل قالب Binary STL با پسوند fbl و fbm به قالب Parasolid با پسوند x\_t، از نرم‌افزار CADfix استفاده شد. لازم به ذکر است که در نرم‌افزار CADfix، همچنین امکان مش‌بندی سطوح و حجم‌های مورد نظر وجود دارد. در این نرم‌افزار نیز ابتدا حجم مورد نظر برای تومور، بافت‌های سالم اطراف و بافت استخوانی به طور مجزا تعریف شدند و سپس این سه مجموعه برای تشکیل تصویری واحد با یکدیگر در هم‌کرد (Merge) شدند (شکل ۳).

به منظور حل معادلات مربوط (معادله‌ی Laplace و معادله‌ی بیوگرمایی) به روش المان محدود، از نرم‌افزار FEMLAB نسخه‌ی ۴/۴ (Cmsol AS, Stockholm, Sweden) استفاده شد.

قرار می‌گیرد (۳۸).

علاوه بر این شرایط مرزی، بایستی شرایط مرزی دیگری برای مطالعه‌ی انتقال گرما بین الکترودها و بافت‌ها در نظر گرفت. با این حال، می‌توان مرزها را آدیاباتیک در نظر گرفت تا بتوان حداکثر افزایش دما را مورد بررسی قرار داد:

$$\frac{\partial T}{\partial n} = 0$$

پارامترهای مورد استفاده جهت مطالعه‌ی پارامتریک الکترودهای سوزنی، در جدول ۱ آمده است. نحوه‌ی انجام مطالعه به این ترتیب بود که جهت بررسی هر کدام از پارامترهای معرفی شده در جدول ۱، سایر پارامترهای موجود مقدار پایه‌ی خود را انتخاب کرده، پارامتر مورد نظر با گام‌های معرفی شده تغییر داده شد و شبیه‌سازی‌های الکتریکی و گرمایی مربوط انجام گرفت. در جدول ۲، خصوصیات بیوالکتریک بافت‌های مختلف (با استفاده از مطالعات پیشین) آمده است.

همچنین، به منظور بررسی توزیع حرارتی در بافت، از معادله‌ی پخش گرما استفاده شد (۳۸).

$$\nabla \cdot (k\nabla T) + \dot{q} = \rho c_p \frac{\partial T}{\partial t}$$

شرایط مرزی، اغلب روی سطوحی که پتانسیل الکتریکی آن مشخص است (سطح الکترودها) و یا سطوحی که از لحاظ الکتریکی عایق است (سطح آزاد بافت)، تعریف می‌شود.

با توجه به موارد پیش‌گفته، فرض می‌شود که سطح الکترودها، دارای ولتاژ تجویز شده و الکترودها دیگر، زمین است. بنابراین، برای مرزی که بافت با یکی از الکترودها است،  $\varphi = V_0$

که  $V_0$  ولتاژ اعمال شده است. همچنین، برای بافتی که در تماس با الکترودها دیگر است،  $\varphi = 0$ . سایر سطوح، عایق الکتریکی در نظر گرفته می‌شوند.

$$\frac{\partial \varphi}{\partial n} = 0$$

جدول ۱. پارامترهای مورد استفاده جهت مطالعه‌ی پارامتریک الکترودهای سوزنی

پارامتر	واحد	بازه	گام	مقدار پایه
فاصله‌ی بین دو الکترودها	Mm	۱-۵	۱	۱
میزان ورود الکترودها در بافت (i)	Mm	۰/۵-۲۵/۰	۵	۰/۵
ضخامت الکترودها (t)	Mm	۰/۵-۲/۰	۰/۵	۰/۵
ولتاژ اعمال شده به الکترودها (V)	V	۵۰۰-۴۰۰۰	۵۰۰	۵۰۰

جدول ۲. خصوصیات بیوالکتریک بافت‌ها و الکترودهای مورد استفاده در مطالعه (۱۰، ۱۲-۱۳)

نوع بافت	رسانایی الکتریکی (S/m)	چگالی (kg/m <sup>3</sup> )	ظرفیت گرمایی (J/kg/°C)	رسانایی گرمایی (W/m/°C)	سرعت رسانش گرمایی (W/kg)	سرعت تولید حرارت (W/kg)
هوا	۰/۰۰۰۰	۱	۱۰۰۳	۰/۰۳	۰	۰/۰۰
استخوان	۰/۰۶۴۳	۱۹۰۸	۱۳۱۳	۰/۳۲	۱۰	۰/۱۵
پوست	۰/۴۹۱۰	۱۱۰۹	۳۳۹۱	۰/۳۷	۱۰۶	۱/۶۵
بافت نرم	۰/۴۹۰۰	۱۰۲۷	۲۳۷۲	۰/۳۹	۳۷	۰/۵۸
تومور	۰/۴۹۰۰	۱۰۲۷	۲۳۷۰	۰/۳۹	۳۷	۰/۵۸
الکترودها	$3/7440 \times 10^7$	۲۷۰۰	---	۹۱۰/۰۰	۲۵۰	-----

میدان الکتریکی بزرگ‌تر از  $900 \text{ V/cm}$  قرار گرفته است (E-T)، آسیب گرمایی تحمیل شده به بافت سالم ( $\Omega$ -N) و همچنین، آسیب گرمایی تحمیل شده به بافت تومورال ( $\Omega$ -T) هستند. به عبارت دیگر، بهینه‌سازی انجام گرفته را می‌توان به دو دسته‌ی بهینه‌سازی الکتریکی و بهینه‌سازی گرمایی تقسیم‌بندی نمود.

### یافته‌ها

نتایج اعتبارسنجی برای مدل معرفی شده، نشان داد که نتایج محاسبات تحلیلی با محاسبات عددی، انطباق قابل قبولی داشت؛ به گونه‌ای که بیشینه‌ی قدر مطلق خطای نسبی برای هندسه‌ی هگزاگونال برابر با  $4/2$  درصد بود. لازم به ذکر است که در هر سه حالت، این بیشینه‌ی اختلاف در لبه‌های مدل به وجود آمد. در فضای بین دو الکتروود (ناحیه‌ای که به طور معمول تومور قرار می‌گیرد)، میانگین این اختلاف کمتر از  $2/5$  درصد بود.

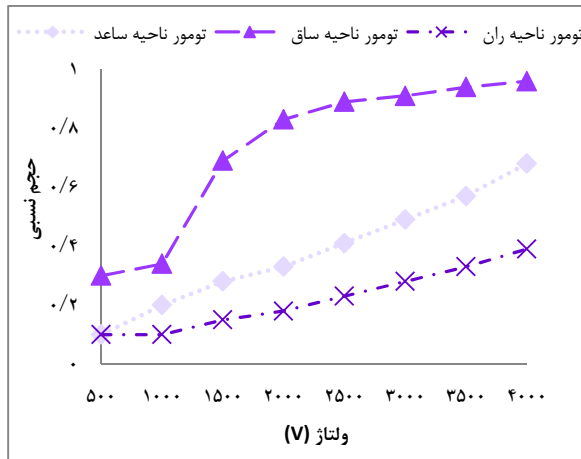
به منظور بررسی توزیع الکتریکی در بافت سالم و تومورال، حجم نسبی ناحیه‌ای که تحت میدان الکتریکی بزرگ‌تر از  $900 \text{ V/cm}$  قرار گرفته است (حجم ناحیه‌ی مد نظر تقسیم بر حجم کل بافت سالم یا تومورال) محاسبه و رسم گردید. نمودار مربوط به حجم نسبی ناحیه‌ی تحت پوشش با میدان الکتریکی بزرگ‌تر از  $900 \text{ V/cm}$  برای هر یک از بیماران در چینش هگزاگونال  $3 \times 3$  در ساختارهای تومورال مورد مطالعه در مجموعه نمودار ۱ آمده است.

نتایج حاصل از بررسی توزیع میدان الکتریکی در بافت سالم و تومورال، بیانگر این مطلب بود که شدت میدان الکتریکی توزیع شده، با افزایش ولتاژ

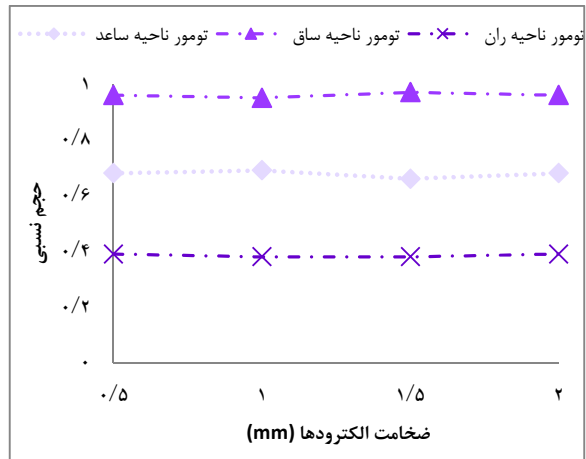
به منظور اعتبارسنجی جواب‌های حاصل از حل عددی معادلات در نرم‌افزار FEMLAB، در شرایط ساده از حل تحلیلی استفاده شد. به این ترتیب که معادله‌ی Laplace به صورت تحلیلی برای یک الکتروود ساده‌ی کاشته شده در بافت نرم همگن حل شد و نتایج آن با حل عددی به دست آمده از نرم‌افزار مقایسه گردید. آزمون همگرایی به این ترتیب انجام شد که جواب‌های ناشی از حل عددی با کمترین تعداد المان محاسبه شد. سپس به تدریج، تعداد المان‌ها افزایش یافت و با افزایش تعداد المان‌ها، به تدریج جواب‌های حل عددی همگرا شد؛ به گونه‌ای که با افزایش بیشتر تعداد المان‌ها، جواب‌های حل عددی تغییر چندانی نیابند.

به منظور بهینه‌سازی هندسه‌ی الکتروودهای مورد استفاده در الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر، از الگوریتم ژنتیک استفاده شد. کد الگوریتم ژنتیک با استفاده از نرم‌افزار MATLAB 7/10/0 (R2010a) نوشته شد. در ابتدای شروع الگوریتم ژنتیک، متغیرهای بهینه‌سازی کدگذاری شدند. این متغیرها، برای الکتروود سوزنی شامل  $r$  (شعاع الکتروود)،  $d$  (فاصله‌ی بین الکتروودها)،  $i$  (میزان ورود الکتروودها در تومور) و  $v$  (ولتاژ اعمالی به الکتروودها) می‌باشند. جمعیت اولیه از متغیرهای پیش‌گفته ( $r, d, h$  و  $v$  یا  $D, d, I$  و  $v$ ) به صورت تصادفی تولید شد.

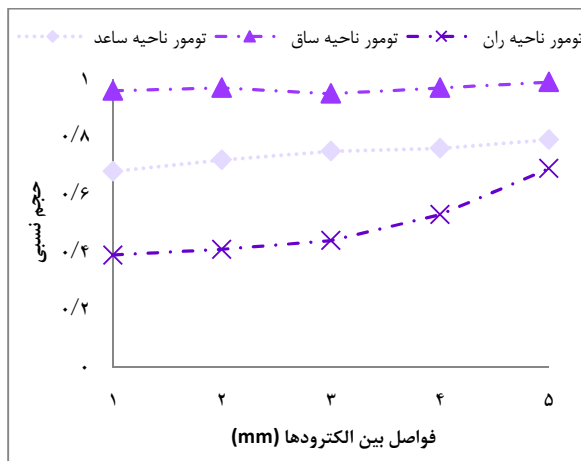
پس از انتخاب این متغیرها و اعمال شرایط مرزی، برای هر کدام از افراد این جمعیت ابتدایی، مقدار تابع هدف به کمک نرم‌افزار FEMLAB محاسبه شد. توابع هدف مورد نظر عبارت از حجم بافت سالم که تحت میدان الکتریکی بزرگ‌تر از  $900 \text{ V/cm}$  قرار گرفته است (E-N)، حجم بافت تومورال که تحت



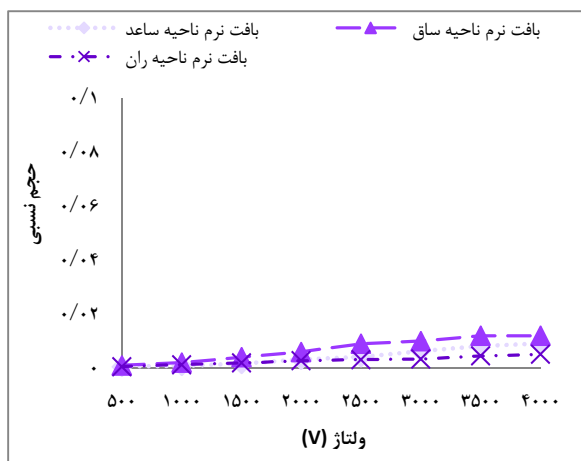
(الف- B)



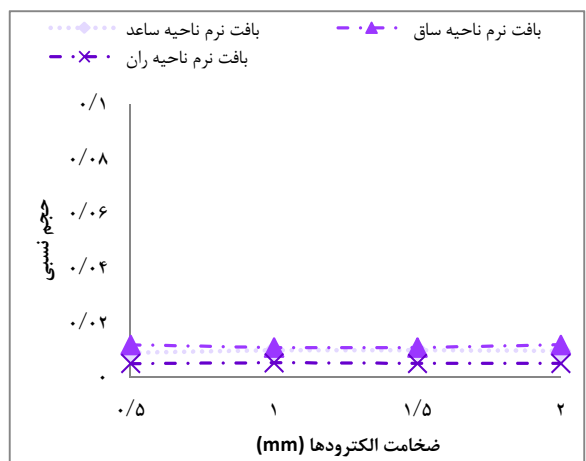
(الف- A)



(الف- C)

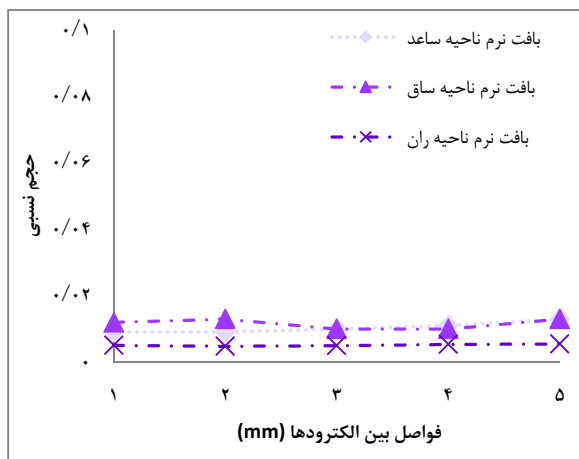


(ب- B)

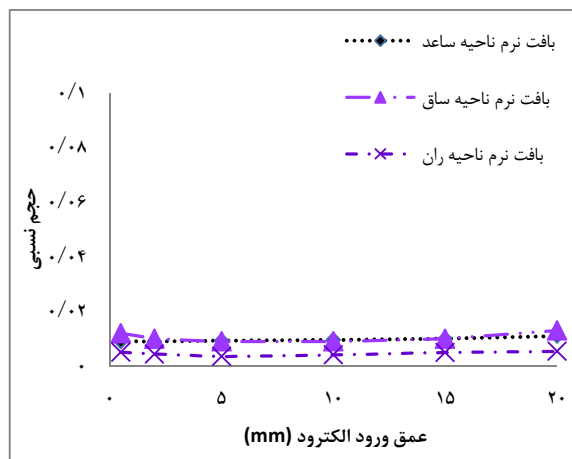


(ب- A)

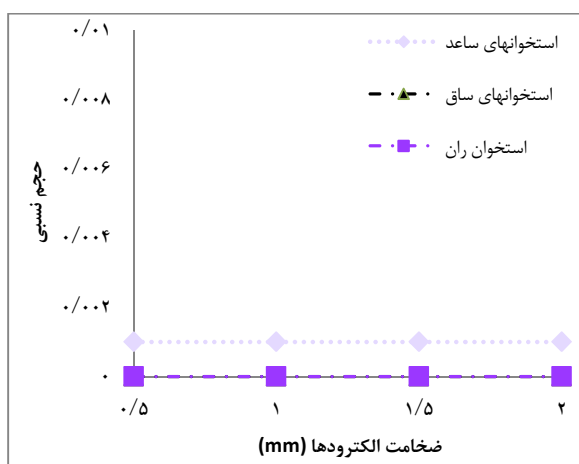
نمودار ۱. نتایج قسمت الکتریکی مطالعه‌ی پارامتریک برای هر یک از بیماران در هندسه‌ی هگزاگونال  $3 \times 3$  بر حسب الف: ولتاژ اعمال شده به الکترودها ب: ضخامت الکترود ج: فاصله‌ی بین الکترودها د: عمق ورود الکترود در بافت، برای بافت‌های تومورال بیماران (A)، بافت‌های نرم سالم بیماران (B) و بافت‌های استخوانی (C).



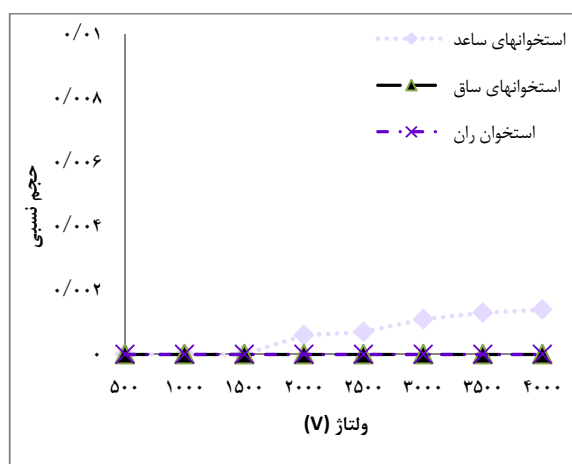
(D-ب)



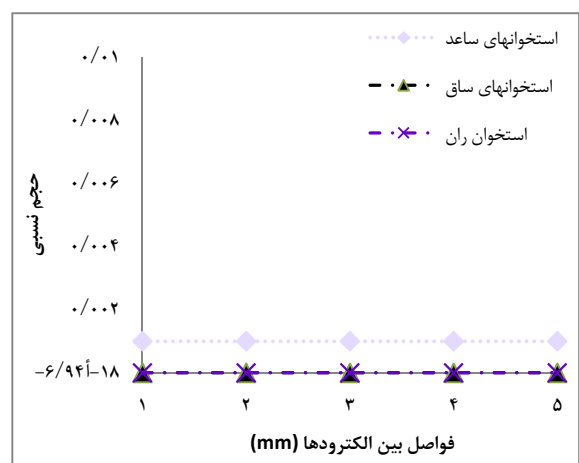
(C-ب)



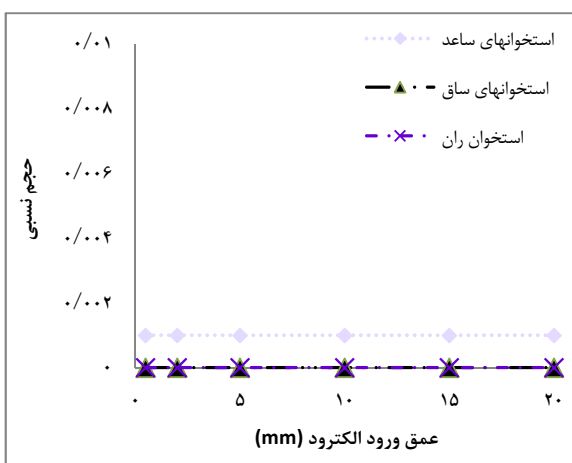
(B-ج)



(A-ج)



(D-ج)



(C-ج)

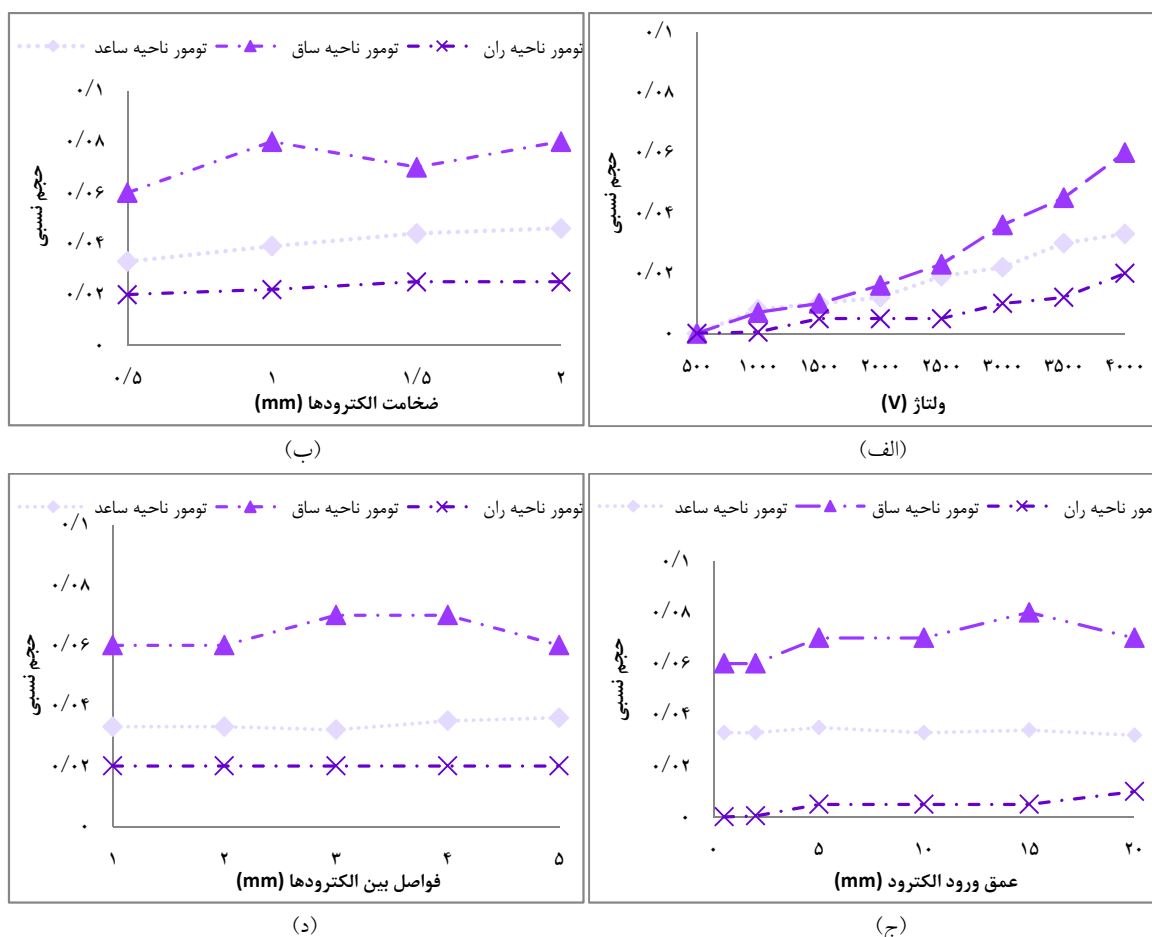
نمودار ۱. نتایج قسمت الکتریکی مطالعه‌ی پارامتریک برای هر یک از بیماران در هندسه‌ی هگزاگونال  $3 \times 3$  بر حسب الف: ولتاژ اعمال شده به الکترودها ب: ضخامت الکترود ج: فاصله‌ی بین الکترودها د: عمق ورود الکترود در بافت، برای بافت‌های تومورال بیماران (A)، بافت‌های نرم سالم بیماران (B) و بافت‌های استخوانی (C) (ادامه).

بسیار کمتر از ناحیه‌ی تومورال است که توسط الکترودها پوشش داده می‌شود.

همچنین، جهت بررسی میزان آسیب گرمایی ( $\Omega$ )، مقدار آسیب برای بافت نرم سالم و تومورال و بافت‌های استخوانی، محاسبه و بر اساس حجم نسبی تحت تأثیر با آسیب گرمایی برای هر پارامتر رسم گردید. نتایج قسمت گرمایی مطالعه‌ی پارامتریک، برای الکترودهای سوزنی بر حسب هر یک از متغیرهای مورد بررسی در هر یک از هندسه‌های هگزاگونال  $3 \times 3$  در مجموعه نمودار ۲ آمده است.

اعمالی به الکترودها افزایش یافت و بیشترین شدت توزیع میدان الکتریکی اختلاف پتانسیل  $4000 \text{ V}$  مشاهده شد. از آن جایی که آستانه‌ی الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر،  $900 \text{ V/cm}$  می‌باشد، می‌توان اظهار نمود که با اعمال اختلاف پتانسیل کمتر از  $2000 \text{ V}$  به بافت‌ها، نمی‌توان توزیع میدان الکتریکی مناسبی را در محدوده‌ی تومور به دست آورد.

با افزایش فاصله از الکترودها، شدت میدان الکتریکی به سرعت افت می‌کند؛ به طوری که میانگین شدت میدان الکتریکی به بافت‌های سالم،



نمودار ۲. نتایج قسمت گرمایی مطالعه‌ی پارامتریک برای بافت‌های تومورال هر یک از بیماران در هندسه‌ی هگزاگونال  $3 \times 3$  بر حسب الف: ولتاژ اعمال شده به الکترودها، ب: ضخامت الکترودها، ج: فاصله‌ی بین الکترودها و د: عمق ورود الکترودها در بافت.



(E-T)، آسیب گرمایی تحمیل شده به بافت سالم ( $\Omega$ -N) و همچنین، آسیب گرمایی تحمیل شده به بافت تومورال ( $\Omega$ -T). نتایج حاصل از بهینه‌سازی با الکتروود سوزنی هگزاگونال  $3 \times 3$  برای بیماران در جدول ۳ آمده است.

### بحث

طبق منابع موجود (۱۴)، سابقه‌ی الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر را می‌توان به سال ۱۷۵۴ و مطالعات Novel و همکاران در خصوص دشارژ یک ژنراتور مولد بار الکترواستاتیک بر روی پوست نسبت داد. Trontelj و همکاران ذکر می‌کنند که مطالعات دیگر در خصوص طراحی الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر، توسط Fuller و همکاران انجام شده و Rockwell، همولیز القایی توسط الکتروپوریشن را بررسی نموده است (۱۵).

نتایج حاصل از بررسی توزیع حرارتی در بافت سالم و تومورال، بیانگر این مطلب بود که با وجود میدان الکتریکی بالا به ناحیه‌ی تومورال، میانگین توزیع حرارتی در تومور فقط در حد چند درجه‌ی سانتی‌گراد نسبت به حالت معمول ( $37^\circ\text{C}$ ) افزایش یافت. گرچه در نقاط نزدیک به انتهای الکتروودها، میزان افزایش حرارت تا  $600^\circ\text{C}$  نیز افزایش می‌یافت. این میزان از افزایش حرارت، در فاصله‌ی چند دهم میلی‌متر از سطح الکتروودها مشاهده شد و با افزایش فاصله از سطح الکتروود، به سرعت کاهش یافت.

نتایج بهینه‌سازی الکتروود هگزاگونال  $3 \times 3$  برای هر بیمار در جدول ۳ آمده است. بهینه‌سازی بر اساس عوامل زیر انجام شد: حجم بافت سالم که تحت میدان الکتریکی بزرگ‌تر از  $900 \text{ V/cm}$  قرار گرفته است (E-N)، حجم بافت تومورال که تحت میدان الکتریکی بزرگ‌تر از  $900 \text{ V/cm}$  قرار گرفته است

جدول ۳. مقادیر بهینه برای متغیرهای بهینه‌سازی به همراه مقادیر تابع هدف مربوط برای بهینه‌سازی الکتروود سوزنی هگزاگونال  $3 \times 3$

مقدار نهایی تابع هدف				$v$ (V)	$i$ (mm)	$d$ (mm)	$t$ (mm)	
$\log(\Omega\text{-T})$	$\log(\Omega\text{-N})$	E-T	E-N					
-۱۰/۱۱	-۱۲/۵۲	۰	۰/۰۰۲۱	۵۳۲	۱۶/۹۳	۰/۹۱	۰/۱۴	E-N
-۶/۲۴	-۸/۷۷	۰/۵۴	۰/۶۱۰۰	۳۳۳۶	۱۴/۳۲	۳/۶۶	۱/۰۵	E-T
-۱۲/۶۴	-۱۱/۳۳	۰	۰/۰۰۱۹	۵۲۵	۱۰/۰۳	۰/۹۹	۱/۷۲	$\Omega$ -N
-۹/۳۰	-۸/۲۵	۰	۰/۰۰۵۹	۶۰۹	۱/۸۸	۰/۹۱	۱/۳۹	$\Omega$ -T
-۱۱/۷۲	-۱۱/۷۰	۰	۰	۵۶۲	۰/۶۶	۰/۷۳	۱/۳۴	E-N
-۱۱/۵۷	-۱۱/۵۰	۰/۶۹	۰/۲۶۰۰	۲۸۹۰	۱۲/۸۹	۱/۴۳	۰/۹۷	E-T
-۱۱/۷۲	-۱۱/۷۰	۰	۰	۵۳۳	۰/۷۹	۰/۷۹	۱/۷۹	$\Omega$ -N
-۱۱/۷۱	-۱۱/۶۹	۰	۰	۵۸۴	۰/۶۲	۰/۹۹	۱/۸۳	$\Omega$ -T
-۱۱/۷۲	-۱۱/۶۸	۰	۰/۰۰۲۳	۵۴۳	۱۹/۳۸	۲/۷۴	۱/۲۸	E-N
-۵/۵۳	-۹/۱۱	۰/۸۳	۰/۵۴۰۰	۳۴۶۱	۲۲/۳۴	۴/۸۸	۰/۷۸	E-T
-۱۱/۷۲	-۱۱/۶۸	۰	۰/۰۰۲۲	۶۲۳	۱۴/۲۷	۲/۸۳	۱/۶۹	$\Omega$ -N
-۱۱/۷۲	-۱۱/۶۷	۰	۰/۰۰۳۴	۵۱۴	۱۱/۳۴	۲/۴۱	۱/۷۳	$\Omega$ -T

E-N: حجم بافت سالم که تحت میدان الکتریکی بزرگ‌تر از  $900 \text{ V/cm}$  قرار گرفته است، E-T: حجم بافت تومورال که تحت میدان الکتریکی بزرگ‌تر از  $900 \text{ V/cm}$  قرار گرفته است،  $\Omega$ -N: آسیب گرمایی تحمیل شده به بافت سالم،  $\Omega$ -T: آسیب گرمایی تحمیل شده به بافت تومورال،  $t$ : ضخامت الکتروود،  $d$ : فاصله‌ی بین الکتروودها،  $i$ : میزان ورود الکتروودها در تومور،  $v$ : ولتاژ اعمالی به الکتروودها

و امکان بازگشت سریع سیستم ایمنی به وضعیت طبیعی، عدم ایجاد اسکار و زخم، قابلیت درمان تومورهای نزدیک به عروق خونی و اعضای حساس و همچنین، قابلیت تمایز مناسب و دقیق ناحیه‌ی درمانی از ناحیه‌ی درمان نشده با دقت چند ردیف سلول، اشاره شده است.

Davalos و همکاران (۱۸) نیز همسو با نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان دادند که الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر، می‌تواند بدون ایجاد آثار گرمایی قابل توجه، موجب مرگ سلول‌ها شود. مطالعات مشابه دیگر نیز در این زمینه توسط Miller و همکاران (۱۱)، Edd و همکاران (۱۴) و نیز Al-sakere و همکاران (۲۲)، عدم مشاهده‌ی آثار گرمایی بارز در الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر را نشان دادند و مزایای استفاده از این تکنیک در مانی را خاطر نشان نمودند.

در مطالعه‌ی Adeyanju و همکاران (۲۳)، هندسه‌ی مطلوب الکترودها شامل دو الکتروود در اطراف یک تومور کروی با قطر  $2/5$  cm و با فاصله‌ی  $2$  cm از یکدیگر که در عمق  $1$  cm زیر ناحیه‌ی مرکزی تومور قرار گرفته‌اند، برآورد شد. آنان، همچنین نشان دادند که توزیع میدان الکتریکی به شدت وابسته به هندسه‌ی الکترودها است و هندسه‌ی مطلوب برای هر تومور را می‌توان با مدل‌سازی عددی و شبیه‌سازی برای هر تومور خاص به دست آورد.

در مطالعه‌ی Pavliha و همکاران (۲۴) نیز از یک نرم‌افزار طراحی درمان در درمان‌های الکتروپوریشن استفاده شد. در این نرم‌افزار، از مدل‌سازی عددی برای بررسی توزیع الکتریکی در بافت تومورال استفاده گردید. نتایج مطالعه، حاکی از قابلیت بالای

از جمله مطالعات اولیه‌ی سیستماتیک که به طور خاص بر روی الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر متمرکز بوده است، می‌توان به مطالعات Frankenhauser و Widen اشاره نمود که خود بر اساس مطالعات Biedermann انجام شده است (۱۶)؛ نتایج حاصل از این مطالعات، یک سال بعد توسط Stampfi و Willi (۱۷) نیز تأیید شد.

سؤالی که توسط محاسبات تحلیلی Davalos و همکاران (۱۸) مورد بررسی قرار گرفت، این بود که «آیا می‌توان آثار مربوط به الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر را از آثار گرمایی تفکیک نمود؟». جواب سؤال این بود که الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر می‌تواند بدون آثار گرمایی قابل توجه منجر به آثار تخریبی بر روی بافت گردد و امکان تمایز آثار گرمایی از اثرات الکتروپوریشن وجود دارد. این فرضیه بعدها توسط مطالعات انجام شده بر روی سلول‌ها، حیوانات کوچک، حیوانات بزرگ و بافت قلب مورد تأیید قرار گرفت و تمامی نتایج حاکی از دقت بالای الکتروپوریشن در تعیین محدوده‌ی حجم هدف با دقتی در حدود چند ردیف سلولی است. همچنین، ثابت شد که آثار الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر همه یا هیچ است و الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر فقط بر روی غشای سلول تأثیر گذاشته و ساختار بافت را دچار تغییر نمی‌نماید (۱۹).

مطالعه‌ی Rubinsky و همکاران (۲۱-۲۰) را می‌توان جزء اولین مطالعات در خصوص مزایای کلینیکی الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر دانست که در آن به مواردی مانند امکان محافظت از عروق خونی و مجاری صفراوی، امکان ترمیم سریع بافت پس از انجام فرایند درمانی، عدم تأثیر بر روی سیستم ایمنی

میدان الکتریکی در تومور با هر یک از انواع الکترودها را به طور عددی شبیه‌سازی کرد تا توزیع میدان در هدف به دست آید.

در نهایت، نتایج مطالعه‌ی حاضر بیانگر آن است که با استفاده از درمان‌های الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر با شش الکتروود سوزنی که به طریقه‌ی هگزاگونال در بافت تومورال کاشته می‌شوند، می‌توان شدت جریان الکتریکی مناسبی را به بافت تومورال به منظور برداشت کامل تومور اعمال نمود. در ضمن، میزان افزایش حرارت در بافت سالم و بافت تومورال کمتر از مقداری است که بتواند آسیب حرارتی قابل ملاحظه‌ای را در بافت‌ها ایجاد نماید..

### تشکر و قدردانی

نتایج این مطالعه حاصل پایان‌نامه دوره‌ی دکترای رشته‌ی فیزیک پزشکی در دانشگاه تربیت مدرس بود و تمامی اعتبارات اجرای این طرح از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس تهران تأمین شد. ضمن این که از همکاری پرسنل و مسئولین مرکز تصویربرداری بیمارستان امام خمینی (ره) تهران به جهت همکاری در طی مراحل اجرایی تحقیق، صمیمانه قدردانی می‌گردد.

نرم‌افزار برای طراحی درمان مؤثر در مورد هر یک از بیماران است. در مطالعه‌ی حاضر نیز نتایج بهینه‌سازی هندسه‌ی الکتروود، بیانگر آن است که برای هر یک از بیماران، هندسه‌ی مطلوب الکترودها با عنایت به شکل و اندازه‌ی تومور بسیار متغیر است و نیاز به مطالعات بهینه‌سازی برای هر یک از بیماران به طور جداگانه احساس می‌شود.

گرچه شبیه‌سازی توسط کامپیوترها نمی‌تواند جای آزمایش‌های تجربی در آزمایشگاه‌ها را بگیرد، اما می‌تواند به منظور پیش‌بینی نتیجه‌ی یک آزمایش، با وقت و هزینه‌ی کمتر، طراحی آزمایش‌های بیشتر و همچنین برای تفسیر نتایج آزمایش‌های تجربی به کار گرفته شود. در بسیاری از کاربردهای الکتروپوریشن، مثل الکتروکموتراپی، الکتروژن تراپی و الکتروپوریشن بازگشت ناپذیر، پارامترهای مورد استفاده برای درمان از اهمیت بالایی برخوردار هستند.

بنابراین، قبل از شروع درمان، باید بهینه‌سازی پروتکل‌های پالس برای کاربردهای درمانی الکتروپوریشن صورت بگیرد. مشکل است که اثربخشی انواع مختلف الکترودهای استفاده شده در الکتروپوریشن را مقایسه کرد؛ چرا که حالات بسیاری در طراحی آزمایش‌های مختلف، با تومورهای مختلف و با ولتاژهای متفاوت وجود دارد. می‌توان توزیع

### References

1. Prendergast B, Fiveash JB, Gibbs P, Scarborough MT, Indelicato DJ. Radiotherapy for soft tissue sarcoma of the proximal lower extremity. *Sarcoma* 2010; 2010: 1-10.
2. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59(4): 225-49.
3. Ferguson WS, Harris MB, Goorin AM, Gebhardt MC, Link MP, Shochat SJ, et al. Presurgical window of carboplatin and surgery and multidrug chemotherapy for the treatment of newly diagnosed metastatic or unresectable osteosarcoma: Pediatric Oncology Group Trial. *J Pediatr Hematol Oncol* 2001; 23(6): 340-8.
4. Songur N, Dinc M, Ozdilekcan C, Eke S, Ok U, Oz M. Analysis of lung metastases in patients with primary extremity sarcoma. *Sarcoma* 2003; 7(2): 63-7.

5. Neal RE, Garcia PA, Robertson JL, Davalos RV. Experimental characterization of intrapulse tissue conductivity changes for electroporation. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2011; 2011: 5581-4.
6. Sel D, Mazeris S, Teissie J, Miklavcic D. Finite-element modeling of needle electrodes in tissue from the perspective of frequent model computation. *IEEE Trans Biomed Eng* 2003; 50(11): 1221-32.
7. Neal RE, Garcia PA, Robertson JL, Davalos RV. Experimental characterization and numerical modeling of tissue electrical conductivity during pulsed electric fields for irreversible electroporation treatment planning. *IEEE Trans Biomed Eng* 2012; 59(4): 1076-85.
8. Miklavcic D, Beravs K, Semrov D, Cemazar M, Demsar F, Sersa G. The importance of electric field distribution for effective in vivo electroporation of tissues. *Biophys J* 1998; 74(5): 2152-8.
9. Sekino M, Ueno S. Magnetic resonance imaging of electric properties of living bodies. *Biocybernetics and Biomedical Engineering* 2007; 27 (1/2): 177-84.
10. Corovic S, Zupanic A, Kranjc S, Al SB, Leroy-Willig A, Mir LM, et al. The influence of skeletal muscle anisotropy on electroporation: in vivo study and numerical modeling. *Med Biol Eng Comput* 2010; 48(7): 637-48.
11. Miller L, Leor J, Rubinsky B. Cancer cells ablation with irreversible electroporation. *Technol Cancer Res Treat* 2005; 4(6): 699-705.
12. Nickfarjam A, Firoozabadi SMP, Kalaghchi B. A multi objective genetic algorithm (MOGA) for optimizing thermal and electrical distribution in tumor ablation by irreversible electroporation. *J Biomed Phys Eng* 2013; 3(1): 13-24.
13. Corovic S, Zupanic A, Miklavcic D. Numerical modeling and optimization of electric field distribution in subcutaneous tumor treated with electrochemotherapy using needle electrodes. *IEEE Transactions on Plasma Science* 2008; 36(4): 1665-72.
14. Edd JF, Horowitz L, Davalos RV, Mir LM, Rubinsky B. In vivo results of a new focal tissue ablation technique: irreversible electroporation. *IEEE Trans Biomed Eng* 2006; 53(7): 1409-15.
15. Trontelj K, Rebersek M, Kanduser M, Serbec VC, Sprohar M, Miklavcic D. Optimization of bulk cell electrofusion in vitro for production of human-mouse heterohybridoma cells. *Bioelectrochemistry* 2008; 74(1): 124-9.
16. Frankenhaeuser B, Widen L. Anode break excitation in desheathed frog nerve. *J Physiol* 1956; 131(1): 243-7.
17. Stampfli R, Willi M. Membrane potential of a Ranvier node measured after electrical destruction of its membrane. *Experientia* 1957; 13(7): 297-8.
18. Davalos RV, Mir IL, Rubinsky B. Tissue ablation with irreversible electroporation. *Ann Biomed Eng* 2005; 33(2): 223-31.
19. Maor E, Ivorra A, Leor J, Rubinsky B. The effect of irreversible electroporation on blood vessels. *Technol Cancer Res Treat* 2007; 6(4): 307-12.
20. Rubinsky B. Irreversible electroporation in medicine. *Technol Cancer Res Treat* 2007; 6(4): 255-60.
21. Rubinsky B, Onik G, Mikus P. Irreversible electroporation: a new ablation modality--clinical implications. *Technol Cancer Res Treat* 2007; 6(1): 37-48.
22. Al-Sakere B, Bernat C, Andre F, Connault E, Opolon P, Davalos RV, et al. A study of the immunological response to tumor ablation with irreversible electroporation. *Technol Cancer Res Treat* 2007; 6(4): 301-6.
23. Adeyanju OO, Al-Angari HM, Sahakian AV. The optimization of needle electrode number and placement for irreversible electroporation of hepatocellular carcinoma. *Radiol Oncol* 2012; 46(2): 126-35.
24. Pavliha D, Kos B, Zupanic A, Marcan M, Sersa G, Miklavcic D. Patient-specific treatment planning of electrochemotherapy: procedure design and possible pitfalls. *Bioelectrochemistry* 2012; 87: 265-73.

## Optimizaing the Parameters of Soft Tissue Sarcoma Tumors in Irreversible Electroporation Treatment Method

Karim Ghazikhanlou-Sani MSc<sup>1</sup>, Seyed Mohammad Firoozabadi PhD<sup>2</sup>,  
Leila Aghaghazvini PhD<sup>3</sup>, Habibollah Mahmoudzadeh MD<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Electroporation is an effective strategy for drug delivery to the target volume, for example in chemotherapy. The efficiency of this method depends on the selection of optimal parameters affecting it. This studay aimed to evaluate the optimum parameters for treatment of soft tissue sarcoma tumors on irreversible electroporation treatments.

**Methods:** The geometry of the tumor was defined using the Mimics software regarding to the gatherd magnetic resonance images (MRI). Using CAD-fix software, the Mimics product geometry was converted to the geometry that could be used in the finite element. The FEMLAB<sub>4.4</sub> software utilized to solve equations (Laplace and the biothermal equations). In order to optimize the geometry of the electrodes used in irreversible electroporation, a Genetic Algorithm program was used. The Genetic Algorithm code was written using the MATLAB<sub>7.10.0</sub> software.

**Findings:** The induced electric field intensity to the tumor increased with increasing voltage applied to the electrodes and the maximum electric field intensity was observed in the potential of 4000 volts. The average electric field intensity distribution in the tissue was altered by changing the electrode penetration depth, the distance between the electrodes and the thickness of the electrodes. Despite the high electric field utilized to the tumor area, there was only a slight increase in the average temperature of the tumor (37°C). Although the tissue temperature near the end of the electrode could be increased up to 600°C.

**Conclusion:** The optimum effective parameters of irreversible electroporation treatments for tumor ablation could be calculated using the numerical modeling methods.

**Keywords:** Electroporation, Numerical modeling, Finite element, Genetic algorithm

**Citation:** Ghazikhanlou-Sani K, Firoozabadi SM, Aghaghazvini L, Mahmoudzadeh H. **Optimizaing the Parameters of Soft Tissue Sarcoma Tumors in Irreversible Electroporation Treatment Method.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(339): 955-69

1- PhD Student, Department of Medical Physics, School of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Department of Radiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Assistant Professor, Department of Surgery, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Seyed Mohammad Firoozabadi PhD, Email: pourmir@modares.ac.ir

## مروری بر کاربرد پلاسمای غنی از پلاکت در ریزش و پیوند مو

دکتر فریبا جعفری<sup>۱</sup>، دکتر محمدعلی نیلفروشانزاده<sup>۲</sup>، دکتر الهه هفت برادران<sup>۳</sup>

### مقاله مروری

### چکیده

امروزه استفاده از پلاسمای غنی از پلاکت (PRP یا Platelet-rich plasma) مورد توجه محققین قرار گرفته است. نتایج مطالعات مروری نشان دهنده تعداد محدودی مقاله در کاربرد PRP در موارد مختلف درماتولوژی از جمله آلوپسی آندروژنتیک، ترمیم زخم‌های مزمن و جوان‌سازی پوست می‌باشد. به نظر می‌رسد PRP با توجه به دارا بودن عوامل رشد، درمان منطقی در ترمیم بافت باشد. سطح شواهد در مطالعات مختلف در زمینه‌ی آلوپسی آندروژنتیک کم تا متوسط است. تکنیک‌های جدیدتر PRP را در ترکیب با سایر روش‌ها در درماتولوژی به کار برده‌اند، اما همچنان لزوم انجام مطالعات بالینی دو سوپه کور و با طراحی خوب، اطمینان متخصصان را در به کارگیری از این روش درمانی افزایش می‌دهد.

**واژگان کلیدی:** پلاسمای غنی از پلاکت، ریزش مو، پیوند مو

**ارجاع:** جعفری فریبا، نیلفروشانزاده محمدعلی، هفت برادران الهه. مروری بر کاربرد پلاسمای غنی از پلاکت در ریزش و پیوند مو. مجله

دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۳۹): ۹۸۲-۹۷۰

### مقدمه

پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) یا پلاکت‌های انسانی در حجم کوچکی از پلاسمای غنی از پلاکت (Platelet-rich plasma) به صورت تغلیظ اتولوگ تعریف می‌شود که حاوی عوامل رشدی است که از پلاکت‌های فعال شده به وسیله کلرید کلسیم، ترومبین یا فیبرینوژن آزاد می‌شوند (۱).

امروزه، بازسازی و ترمیم بافت و جوان‌سازی به کمک فیبروبلاست، کراتینوسیت و کاربرد عوامل رشد و سیتوکین‌های مشتق شده از پلاکت‌ها به عنوان یک روش درمانی نوین مورد توجه محققان و پزشکان قرار گرفته است. از جمله اثرات مفید کاربرد PRP در

اعمال جراحی، می‌توان به کاهش خونریزی عروقی و ترشح از فلاپ‌های جراحی، کاهش نیاز به درناژ، کاهش درد و تورم پس از عمل جراحی، افزایش سرعت بهبودی و بهبود ترمیم زخم اشاره کرد (۵-۱). PRP مشتمل بر ۲۰ عامل رشد می‌باشد که معروف‌ترین آن‌ها عبارت از PDGF (Platelet-derived growth factor) و Trans- $\beta$ -forming (Platelet-derived growth factor) و سایر پروتئین‌های مترشحه‌ی مؤثر در ترمیم زخم می‌باشند و از گرانوم‌های پلاکت‌های فعال شده ترشح می‌شوند و شامل VEGF (Vasculoendothelial growth factor)، IGF (Insulin-like growth factor)، Oc (Osteocalcin)،

۱- استاد، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران و مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- پزشک عمومی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: elahe\_md2003@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤؤل: دکتر الهه هفت برادران

مشمتمل بر ساقه‌ی مو، غدد سباسه، ماهیچه‌ی راست کننده، عضله و پری‌فولیکولوم می‌باشد. Headington این واحد بافتی را توضیح داده است (۷).

PRP در واقع تغلیظ اتولوگ پلاکت‌های انسانی در حجم کوچکی از پلاسماست و دارای غلظت پلاکتی حدود ۴-۷ برابر بیشتر از مقدار پایه است و از خون خود بیمار پس از فرایند سانتریفوژ اتوماتیک به دست می‌آید (۸)

به طور معمول، استفاده از سانتریفوژهای دستی به دلیل احتمال آلودگی و همچنین اثربخشی کمتر در بازیابی پلاکت‌ها (۷۰-۳۰ درصد) توصیه نمی‌شود (۹).

FDA (Food and Drug Administration) کاربرد سانتریفوژهای اتوماتیک را در تهیه‌ی عوامل رشد در درمان بیماران زخم مزمن پای دیابتی مورد تأیید قرار داد. آن‌ها همچنین چندین گزارش ارایه نمودند مبنی بر این که بر اساس سیستم‌های اتوماتیک به کار رفته، محتوای عوامل رشد در PRP متفاوت خواهد بود. متغیرهای تهیه‌ی PRP مشتمل بر غلظت پلاکت، نوع فعال کننده‌ی لخته، استفاده و یا عدم استفاده از فعال کننده و غیره، به طور مشخصی اثرات بیولوژیکی متفاوتی را در پی خواهد داشت. PRP همچنین در گذشته در مواردی مانند جراحی پلاستیک، جراحی دندان، جراحی عمومی، جراحی اعصاب و ارتوپدی به کار رفته است. به نظر می‌رسد PRP نقش برجسته‌تری در زخم‌های مزمن، زخم‌های فشاری و بافت‌های دارای خونریزی مختل و یا عفونت داشته باشد (۹-۱۱).

آلوپسی آندروژنتیک (Androgenetic alopecia) یا AGA) با تأثیر روان‌شناختی واضحی بر هر دو جنس زن و مرد همراه است و باعث شده است که تحقیقات

On (Osteonectin) Fn (Fibronectin)، Vn (Vitronectin) و Tsp-1 (Thrombospondin-1) می‌باشند (۵-۱).

این عوامل، می‌توانند منجر به افزایش میزان کلاژن، آنژیوژنز، پرولیفراسیون فیروبلاست‌ها و سنتز بهتر ماتریکس سلولی شوند که در نهایت، به بهبود ترمیم زخم و بازسازی بافت نرم منجر خواهد شد (۵-۱).

اولین مطالعات در زمینه‌ی کاربرد عوامل رشد مشتق شده از پلاسمای طی سال‌های ۸۰-۱۹۷۰ انجام شده‌اند که اثربخشی آن در ترمیم زخم و بهبود هموستاز در فرایند ترمیم زخم را مطرح کرده‌اند. در سال‌های اخیر، در زمینه‌ی ارتوپدی و دندان‌پزشکی، نقش این عوامل در بهبود گرافت استخوانی و سنتز استخوانی دندان مورد بحث قرار گرفته است (۶). عملکرد عوامل رشد بر چرخه‌ی رشد مو در مرحله‌ی جنینی و پس از آن در افراد بالغ نیز توضیح داده شده است (۶).

عوامل رشد در ناحیه‌ی بالگ (Bulge area) مو - جایی که سلول‌های بنیادی یافت می‌شوند- فعالیت می‌کنند و با تقابلی که با سلول‌های ماتریکس انجام می‌دهند، مرحله‌ی پرولیفراتیو مو را فعال می‌کنند. سلول‌های بنیادی، سلول‌های ابتدایی هستند و منشأ اکتودرمال دارند و منشأ تولید سلول‌های اپی‌درمال و غدد سباسه هستند. سلول‌های زاینده‌ی ماتریکس که در ناحیه‌ی درمال پاپیلا یافت می‌شوند، منشأ مزانشیمال دارند. هر دوی این سلول‌ها به یکدیگر نیاز دارند و هنگامی که به واسطه‌ی عملکرد عوامل رشد (VEGF، TGF-beta و PDGF) به یکدیگر می‌پیوندند، تبدیل به فولیکولاریونیت خواهند شد که

## یافته‌ها

در حال حاضر، با وجود موارد کاربرد متعدد PRP در درماتولوژی، تعداد محدودی مطالعه به چاپ رسیده است. بیشتر مطالعات Open-label و با کیفیت Evidence کم تا متوسط بودند. خلاصه‌ی مطالعات استخراج شده در جدول ۱ آمده است.

## الف- تأثیر PRP به عنوان محرک رویش مو

در این بررسی، مطالعات استخراج شده به شرح زیر بودند:

۱- در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۱ کشور ژاپن توسط Takikawa و همکاران که نوعی اصلاح روش تهیه‌ی PRP نیز محسوب می‌شد، ۲۶ بیمار دارای موهای نازک ناحیه‌ی فرونتال یا پاریتال با ۵ ناحیه‌ی درمانی را انتخاب کردند. ۱۳ نفر تحت درمان تزریق PRP همراه با Deltaparin در پروتامین میکرو پارتیکل (D/P MPs یا Dalteparin/protamine microparticles) و ۱۳ نفر تحت تزریق PRP همراه با سالین قرار گرفتند. تزریق‌ها در محل‌های مورد نظر بیماران به عنوان گروه مورد و نقطه‌ی مقابل یا بخشی که تراکم مشابهی داشت، به عنوان گروه شاهد انجام شد.

فاصله‌ی محل تزریق، تا نوک بینی و بخش فوقانی گوش اندازه‌گیری شد و محل‌های مساوی از نظر اندازه و جهت درمان انتخاب شدند. بیماران توسط دوربین دیجیتال و همچنین دوربین درموسکوپ فتوگرافی شدند و سپس تحت درمان PRP تنها یا PRP به همراه D/P MPs قرار گرفتند. بیماران به میزان ۳ سی‌سی PRP به همراه D/P MPs یا PRP تنها به صورت زیر جلدی با کمک سوزن ۲۵G قرار گرفتند و ۳ سی‌سی سالین در نقطه‌ی مقابل به عنوان شاهد تزریق شد.

بی‌شماری جهت دستیابی به روش‌های درمانی مناسب و مؤثر در این زمینه انجام پذیرد. کاشت مو در بیماران که اندیکاسیون داشته باشند، درمان مؤثری است. ماینوکسیدیل و فیناستراید نیز اثربخشی ثابت شده‌ای در درمان AGA دارند و همچنین، به عنوان درمان کمکی در پیوند مو به شمار می‌روند.

نقش PRP در ساخت عروق جدید، باعث جلب توجه متخصصان پوست و جراحان پلاستیک در به کارگیری آن در رویش مو شده است.

بر اساس مطالعه‌ی Li و همکاران، PRP فعال شده منجر به تحریک تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی در ناحیه‌ی بالگ فولیکول مو با مکانیسم‌های متعدد مولکولی می‌گردد. این مکانیسم‌ها به شرح زیر می‌باشند:

- Up regulation نسخه‌برداری  $\beta$ -catenin منجر

به تمایز سلول بنیادی به فولیکول مو می‌شود.

- افزایش سطح bcl-۲ منجر به اثر ضد پیری سلول و افزایش حیات سلول‌های درمال پایپلا می‌گردد.

- بیان FGF-۷ در سلول‌های درمال پایپلا، مرحله‌ی رشد مو را طولانی می‌کند.

افزایش VEGF و PDGF که پیش‌سازهای عروقی هستند، شبکه‌ی عروقی اطراف فولیکول مو را افزایش می‌دهند (۱۲).

## روش‌ها

هدف این مقاله‌ی مروری، بررسی کلیه‌ی مستندات مرتبط با کاربرد پلاسمای غنی از پلاکت در ریزش مو و پیوند مو بود که با واژگان کلیدی Hair transplantation, Hair, Platelet rich plasma و PRP، در پایگاه‌های Pubmed و Google scholar تا دسامبر ۲۰۱۴ بازیابی شدند.



جدول ۱. شواهد کاربرد PRP (Platelet-rich plasma) در آلوپسی آندروژنتیک

نویسندگان	طراحی مطالعه	حجم نمونه	سطح شواهد	تهیه PRP	پیگیری	نتایج
Uebel و همکاران (۶)	Right-left study, Open label, مقایسه‌ی نتایج فولیکولار گرفت قرار گرفته در PRP در مقایسه با سالین قبل از کاشت مو به روش FUT	n = ۲۰، مرد	IIa	دستی با دو مرحله چرخش تعداد پلاکت ۴-۶*	۷ ماه	افزایش واضح (۵۲-۳ درصد) در واحدهای فولیکولی
Rinaldi و همکاران (۱۳)	Double blind randomized trial اثربخشی گرفت‌های فولیکولی ذخیره شده در PRP و بررسی آزمایشگاهی PRP در مقابل محلول رینگر جهت ذخیره‌ی موهای کاشته شده	n = ۱۰۰ (۵۰ مرد و ۵۰ زن)	IIa	ذکر نشده بود	۱۸ ماه	اثربخشی واضح کلینیکی و آزمایشگاهی PRP در پیشگیری از مرگ درمال پایلا. طولانی شدن مرحله‌ی آنژن و تحریک رویش مجدد مو در AGA بدون عوارض جانبی
Li و همکاران (۱۲)	مطالعه‌ی آزمایشگاهی مکانیسم مولکولی اثر PRP بر رشد مو و مطالعه‌ی کلینیکی RCT با تزریق PRP بر موش	n = ۶	I	دستی با دو مرحله چرخش	۳ هفته	تیرگی گسترده‌ی پوست پشت موش‌ها پس از تزریق PRP یک بار هر ۳ روز تا ۲ هفته. در هفته‌ی سوم، رویش مجدد مو کامل مشاهده شد.
Kang و همکاران (۱۴)	مطالعه‌ی کنترل شده‌ی آینده‌نگر و Open label مقایسه‌ی تأثیر تزریق اینتر فولیکولار PRP حاوی سلول‌های CD۳۴ <sup>+</sup> در مقایسه با عصاره‌ی جفت به عنوان شاهد	n = ۲۶ (۱۳ مورد، ۱۳ شاهد)	IIa	PRP به روش اتوماتیک به دستگاه Smart PRP	۶ ماه	PRP بهبودی واضحی در ضخامت موها در مقایسه با عصاره‌ی جفتی نشان داد (P = ۰/۰۲۷)، اما برای تعداد موها، تفاوت معنی‌دار نبود (P > ۰/۰۵۰).
Brandt و Greco (۱۵)	مطالعه‌ی کنترل شده، Open label کنترل شده و مقایسه با دارو نما ارزیابی مزوتراپی PRP بر AGA	n = ۱۰ (۵ مورد و ۵ شاهد)	IIa	ذکر نشده بود.	۸ ماه	۹/۷ درصد افزایش در قطر ساقه‌ی موها پس از ۴ ماه و ۶/۱ درصد پس از ۸ ماه
Lopez و همکاران (۱۶)	مطالعه‌ی کنترل شده، Open-label ارزیابی مزوتراپی PRP بر AGA	n = ۶۲ (۳۱ مورد و ۳۱ شاهد)	III	ذکر نشده بود.	۱۲ ماه	افزایش واضح در تراکم مو (P = ۰/۰۴۸) و بینابین در افزایش تعداد موها (P = ۰/۰۵۳).
Park و همکاران (۱۷)	مقایسه‌ی نیمی از اسکالپ با تزریق PRP و نیم دیگر تزریق سالین در بیمار مبتلا به AGA	n = ۱	III	کیت PRP (prosyst: Tozai holdings, Inc., seoul, Korea)	۶ ماه	افزایش واضح در میزان رشد و تراکم موها مشاهده شد، اما هیچ تغییری در ضخامت موها دیده نشد.
Takikawa و همکاران (۱۸)	مطالعه‌ی آینده‌نگر کنترل شده با دارو نما، نیمی از اسکالپ با حامل جدید برای PRP تحت عنوان D/P MPs جهت بررسی رویش مو	n = ۲۶ (۱۳ نفر PRP D/P MPs، در مقابل سالین و ۱۳ نفر PRP با سالین)	IIa	دستی با دو مرحله چرخش	۱۲ هفته	PRP و دلنابارین/پروتامین (D/P MPs) اثر مضاعفی در مقطع عرضی مو نسبت به PRP تنها داشت. اگر چه هر دو، رویش مو را نسبت به سمت شاهد بیشتر تسهیل کرده بودند.

جدول ۱. شواهد کاربرد PRP (Platelet-rich plasma) در آلوپسی آندروژنتیک (ادامه)

نویسندگان	طراحی مطالعه	حجم نمونه	سطح شواهد	تهیه PRP	پیگیری	نتایج
Duygu و همکاران (۱۹)	مطالعه حیوانی آینده‌نگر کنترل شده، نیمی از پشت کاشت مو به همراه تزریق PRP و نیمی دیگر بدون PRP	n = ۷۰		دستی با دو مرحله چرخش	۲ ماه	تراکم مشابه در ساقه‌ی موها در هر دو گروه پس از یکماه، میزان تولید عروق جدید در گروه PRP بیشتر از گروه شاهد و پس از ۲ ماه، میزان ایجاد عروق جدید و تعداد ساقه‌های مو در گروه PRP بیشتر از گروه شاهد بود.
Khatu و همکاران (۲۰)	مطالعه‌ی موردی	n = ۱۱		دستی با دو مرحله چرخش	۳ ماه	کاهش واضح ریزش مو بین ۴-۱ تزریق و افزایش تعداد واحد فولیکولی بین ۹۳-۷۱ و منفی شدن آزمایش Hair pull در ۹ بیمار
Betsi و همکاران (۲۱)	Therapeutic study تأثیر PRP بر ریزش موی ارثی تأثیر PRP بر ریزش مو	n = ۴۲	IV	کیت Regen lab به روش دستی	۳ ماه	آزمایش Hair pull در تمام بیماران منفی شد. بهبود واضح حجم و کیفیت موها، رضایتمندی بالای بیماران به ویژه در بیماران با ریزش موی کمتر از ۲ سال و نتایج ضعیف‌تر در بیماران Norwood مرحله‌ی VI-VII مشاهده شد.
Cervelli و همکاران (۲۲)	Clinical study	n = ۱۰		دستی با دو مرحله چرخش	۳ ماه	بهبودی کلینیکی با افزایش تعداد ۱۸ مو در ناحیه‌ی درمان و افزایش تراکم با ۲۷/۷ مو در هر سانتی‌متر مربع، ارزیابی میکروسکوپی افزایش ضخامت اپیدرم و تعداد فولیکول مو ۲ هفته پس از آخرین جلسه‌ی درمان، افزایش کراتینوسیت‌های Ki67 <sup>+</sup> اپیدرم و سلول‌های بالگ فولیکول مو و افزایش مختصر عروق خونی کوچک اطراف فولیکول مو در پوست ناحیه‌ی درمان شده در مقایسه با دارو نما (P < ۰/۰۵۰).

PRP: Platelet-rich plasma; FUT: Follicular unit transplant; RCT: Randomized controlled trial; AGA: Androgenetic alopecia; D/P MPs: Dalteparin/protamine microparticles

بیماران ۵ تزریق در هفته‌های ۰، ۲، ۴، ۶ و ۹ دریافت کردند و به مدت ۱۲ هفته در هفته‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۹ و ۱۲ بررسی شدند. سپس تعداد کلی موها در منطقه‌ی تحت درمان و همچنین قطر موها اندازه‌گیری شد. به علاوه، قبل از اولین تزریق و پس از پنجمین تزریق (پس از ۱۲ هفته) بیوپسی انجام شد.

در این مطالعه نشان داده شد که انواع متفاوت عامل رشد در PRP کنسانتره می‌شود و تجویز مستقیم این عوامل بر فولیکول مو اثر می‌گذارد و به طور غیر مستقیم، باعث ایجاد شبکه‌ی عروقی اطراف فولیکول می‌شود. D/P MPs به عنوان یک ماده‌ی طبیعی جهت نگهداری، حفظ و سپس آزادسازی تدریجی عوامل رشد جهت رشد فولیکول مو به کار رفت.

نتایج نشان داد بهبود ضخامت و قطر موها پس از تزریق موضعی PRP به همراه D/P MPs واضح‌تر از گروه PRP تنها بود. بهبود ضخامت و همچنین رشد موها در گروه PRP نیز مشاهده شد، اما تغییرات در گروه D/P MPs بیشتر بود و این روش، می‌تواند به عنوان یک روش ساده و آسان نسبت به روش معمولی و بدون عارضه‌ی جانبی در نظر گرفته شود (۱۸).

۲- یک مطالعه‌ی حیوانی (In vitro) بر روی موش وجود داشت:

در مطالعه‌ای در کشور کره توسط Li و همکاران، کاربرد PRP اتولوگ را به عنوان ابزاری کمکی و روشی مؤثر روی موش‌ها بررسی کردند. مطالعه بر روی ۶ موش انجام شد و در سن ۷ هفتگی، زمانی که تمامی موها در مرحله‌ی تلوزن هستند، پشت موش‌ها تراشیده شد. موش‌ها به صورت تصادفی در ۳ گروه قرار گرفتند و به ترتیب تحت تزریق زیر جلدی

۱۰۰ میکرولیتر بافر سالین فسفات (PBS یا Phosphate buffered saline)، FBS (Fetal bovine serum) و PRP فعال شده با فواصل هر ۳ روز قرار گرفتند. رویش مو هر ۳ هفته بررسی شد و تزریق‌ها قبل از این که موها وارد مرحله‌ی رشد (مرحله‌ی آناتژن) شوند، متوقف شد. در این مطالعه، تأثیر PRP بر پرولیفراسیون سلول‌های درمال پایبلا (Dermal papilla) در مقایسه با موش‌های شاهد بررسی شد. نتایج نشان داد PRP فعال شده منجر به افزایش پرولیفراسیون سلول‌های درمال پایبلا در مقایسه با گروه‌های شاهد می‌شود و به علاوه، با فعال‌سازی کیناز خارج سلولی تحت کنترل سیگنال (ERK یا Extra cellular signal regulated kinase) و سیگنال AKT (پروتئین کیناز B) می‌شود. سیگنال ERK عامل شناخته شده‌ی رشد سلولی و سیگنال AKT عامل شناخته شده‌ی بقای سلول و پیشگیری کننده از مرگ سلولی در سلول‌های درمال پایبلا هستند و PRP فعال شده، منجر به القای رشد سلولی در بدن می‌شود. همچنین، باعث افزایش تظاهر پروتئین‌های Bcl2 (نوعی پروتئین ضد پیری سلول) می‌گردد. بتاکاتین نقش مهمی در تکامل فولیکول مو و همچنین چرخه‌ی رشد مو دارد. در این مطالعه در گروه PRP، سطوح بالاتری از این سیگنال مشاهده شد. عامل رشد (Fibroblast growth factor-۷) FGF-۷ در سلول‌های درمال پایبلا منجر به طولانی‌تر شدن مرحله‌ی آناتژن می‌گردد که در گروه PRP سطح بالاتری نسبت به گروه شاهد داشت. در نتیجه‌ی تزریق PRP فعال شده در ناحیه‌ی پشت موش، تیرگی منتشره با تزریق هر ۳ روز تا ۲ هفته و رویش موی کامل پس از ۳ هفته داشت که در دو گروه دیگر

مشاهده نشد (۱۲).

۳- Rogers طی یک مقاله‌ی تفسیری (Commentary) در رابطه با مطالعه‌ی Li و همکاران (۱۲) نکاتی را مطرح کرد. وی بر اهمیت مطالعه‌ی Li و همکاران (۱۲) به دلیل مطرح شدن مکانیسم مولکولی PRP بر عوامل رشد مو و کاربرد کلینیکی اولیه‌ی آن تأکید کرده است. وی در عین حال، نیاز به مطالعات بالینی کور شده در مورد تأثیر استفاده از PRP در پیوند مو و همچنین یافته‌های مبتنی بر شواهد که به طور دقیق، پارامترهای مربوط به غلظت واقعی و دوز PRP، فواصل و زمان‌های تزریق PRP پس از پیوند مو را مشخص کنند، مطرح می‌سازد (۲۳).

۴- در مطالعه‌ی Kang و همکاران، مشاهده شد که سلول‌های بنیادی خونی  $CD34^+$  که در عروق خون محیطی حرکت می‌کنند، در PRP تهیه شده به روش Smart PReP<sup>®</sup> بیشتر تغلیظ می‌شوند که می‌تواند بیانگر اثرات سینرژیک بر خاصیت عروق‌سازی القا شده توسط PRP در بیماران مبتلا به ریزش مو باشد (۱۴). فرضیه‌ی آنها بر اساس شواهد قبلی مبنی بر نقش آنژیوژنتیک سلول‌های بنیادی خونی  $CD34^+$  در موارد ایسکمیک استوار بود (۲۴).

### ب- تأثیر PRP در درمان آلوپسی آندروژنتیک

مطالعات استخراج شده به شرح زیر بودند:

۱- PRP به عنوان مزوتراپی در بیماران AGA در مطالعه‌ای توسط Greco و Brandt مورد استفاده قرار گرفت. در این مطالعه که بر روی ۱۰ بیمار (۵ مورد و ۵ شاهد) انجام گرفت، ۹/۷ درصد افزایش در قطر ساقه‌ی مو پس از ۴ ماه و ۶/۱ درصد پس از ۸ ماه مشاهده شد (۱۵).

۲- در مطالعه‌ی Lopez و همکاران نیز PRP به عنوان مزوتراپی در AGA در ۶۲ بیمار (۳۱ نفر مورد و ۳۱ نفر شاهد) به کار رفت که پس از ۱۲ ماه پیگیری، تفاوت معنی‌داری در افزایش تراکم موها و تفاوت بینابین در افزایش تعداد موها مشاهده شد (۱۶).

۳- در گزارش موردی Park و همکاران، در یک بیمار، نیمی از اسکالپ تحت تزریق PRP و نیمی دیگر از اسکالپ تحت تزریق سالین قرار گرفت. بررسی ۶ ماهه انجام شد و افزایش واضح در میزان رشد و تراکم مو مشاهده شد؛ اما ضخامت مو هیچ تغییری نداشت (۱۷).

۴- مطالعه‌ی Khatu و همکاران بر روی ۱۱ بیمار مبتلا به آلوپسی آندروژنتیک که ۶ ماه به درمان دارویی (ماینوکسیدیل و فیناستراید) پاسخ نداده بودند، انجام شد. آزمایش Hair pull قبل و بعد از هر جلسه درمان انجام شد. ۲-۳ سی سی PRP تزریق شد. درمان هر ۲ هفته برای ۴ بار انجام شد. نتایج پس از ۳ ماه با بررسی کلینیکی، فتوگرافی و آزمایش Hair pull و رضایتمندی بیمار ارزیابی شد. نتایج، کاهش واضح ریزش مو بین ۴-۱ تزریق و افزایش تعداد واحد فولیکولی بین ۹۳-۷۱ شد و آزمایش Hair pull در ۹ بیمار منفی به دست آمد (۲۰).

۵- در مطالعه‌ی Betsi و همکاران در سوییس، ۴۲ بیمار با ریزش موی آندروژنتیک تحت درمان با PRP ۵ بار در مدت ۲ ماه قرار گرفتند. قبل از هر جلسه‌ی درمانی Pull clinical test انجام شد. ۸-۱۲ سی سی PRP تزریق شد و ارزیابی نتایج توسط آزمایش Hair pull، معاینه‌ی کلینیکی و فتوگرافی و نیز رضایتمندی بیماران انجام شد. قبل از درمان ۹۰/۵ درصد بیماران آزمایش Hair pull مثبت (متوسط

مطالعه‌ی Case Series بر روی انسان وجود داشت که به قرار زیر است:

۱- مطالعه‌ی Uebel و همکاران اولین کاربرد PRP را در کاشت مو مطرح کرد. این بررسی بر روی ۲۰ بیمار ۲۵-۵۵ ساله مبتلا به طاسی مدل مردانه که تحت درمان کاشت مو قرار گرفتند، انجام شد. دو منطقه‌ی طاس  $2/5 \times 2/5$  سانتی‌متر مربع قرینه در ناحیه‌ی فرونتال انتخاب شد و در هر منطقه، ۱۸۰ فولیکولار یونیت کاشته شد. در سمت راست، فولیکولار یونیت‌ها به میزان ۱۵ دقیقه آغشته به PRP شدند و اجازه داده شد تا عوامل رشد به سلول‌های بنیادی واقع شده در ناحیه‌ی بالگ مو برسد. سپس ۱۰ قطره کلرید کلسیم ۱۰ درصد جهت تبدیل فیبرینوژن به فیبرین اضافه شد و در نهایت فولیکولار یونیت‌ها کاشته شدند و در سمت چپ، فولیکولار یونیت ساده کاشته شد.

در هر دو ناحیه با تعداد مساوی، میکروگرافت کاشته شد. بیماران به مدت ۷ ماه پیگیری شدند و در پایان ماه ۷، با کمک ذره‌بین توسط جراح و دو همکار مشاهده شدند. ناحیه‌ی تحت درمان با PRP منجر به رویش ۱۸/۷ و در گروه شاهد ۱۶/۷ فولیکولار یونیت در سانتی‌متر مربع شد، که با اختلاف معنی‌دار ۱۵/۱ درصد در رشد و تراکم موها در گروه PRP همراه بوده است. در این مطالعه، PRP ۶-۴ بار نسبت به سرم طبیعی تغلیظ شده بود و با کمک کلرید کلسیم جهت تبدیل فیبرینوژن به فیبرین فعال شده بود. افزایش حیات واحدهای فولیکولی به میزان ۲/۴ فولیکولار یونیت در سانتی‌متر مربع یا در واقع ۲۴۰ واحد (۴۸۰ فولیکول با احتساب ۲ فولیکول مو در هر واحد) در یک ناحیه‌ی ۱۰۰ سانتی‌متر مربعی مشاهده شد.

این روش می‌تواند منافی به خصوص در بیماران

۸ (تار مو) داشتند. پس از جلسه‌ی سوم، آزمایش در تمام بیماران منفی (متوسط ۳ تار مو) شد. پس از ۳ ماه فتوگرافی، بهبود واضح حجم و کیفیت موها مشاهده شد و بیماران رضایتمندی بالایی داشتند. نتایج به ویژه در بیماران با ریزش موی کمتر از ۲ سال واضح‌تر بود؛ در حالی که نتایج ضعیف‌تر در بیماران Norwood مرحله‌ی VI-VII مشاهده شد (۲۱).

۶- در مطالعه‌ی Cervelli و همکاران در ایتالیا، ۱۰ بیمار با ریزش موی مردانه که در ۱۲ ماه گذشته هیچ درمان موضعی و خوراکی برای ریزش مو مصرف نکرده بودند، وارد مطالعه شدند و تحت تزریق ۳ بار PRP در نصف پوست سر و دارو نما در نیمه‌ی دیگر قرار گرفتند. ارزیابی بر اساس میزان رویش مجدد موها، دیستروفی مو به وسیله‌ی درموسکوپی، حس خارش و سوزش و پرولیفراسیون سلولی به وسیله‌ی ارزیابی Ki-۶۷ انجام شد. در پایان ۳ جلسه درمان، بهبودی کلینیکی با افزایش تعداد ۱۸ مو در ناحیه‌ی درمان و افزایش تراکم مو به میزان ۲۷/۷ مو در هر سانتی‌متر مربع در مقایسه با ابتدای درمان مشاهده شد. ارزیابی میکروسکوپی، افزایش ضخامت اپیدرم و تعداد فولیکول مو ۲ هفته پس از آخرین جلسه‌ی درمان را نشان داد ( $P < 0/050$ ). همچنین، افزایش کراتینوسیت‌های Ki۶۷<sup>+</sup> اپیدرم و سلول‌های بالگ فولیکول مو و افزایش مختصر عروق خونی کوچک اطراف فولیکول مو در پوست ناحیه‌ی درمان شده در مقایسه با دارو نما مشاهده شد ( $P < 0/050$ ) (۲۲).

### ج- تأثیر PRP در پیوند مو

در این خصوص، یک مطالعه‌ی RCT (Randomized controlled trial) دو سویه کور و ۲

PRP بر قابلیت زنده ماندن فولیکول‌های موی کاشته شده در رت‌ها بررسی شد. در این مطالعه، منطقه‌ی پشت رت‌ها به دو نیمه تقسیم شد و از هر نیمه، نمونه‌ی ۲ × ۱ سانتی‌متر مربع برداشته شد و فولیکول‌های مو جدا شدند و در منطقه‌ی برداشت شده کاشته شدند. پس از بسته شدن زخم، ۰/۲ سی سی PRP به یک طرف تزریق شد. پس از ۱ و ۲ ماه، نمونه‌ی پوستی از محل گرفت مو برداشته شد و به وسیله‌ی روش ایمونو کمیکال CD۳۱ و میکروسکوپ آنالیز شد. تراکم مشابه در ساقه‌ی موها در هر دو گروه پس از یک ماه دیده شد، اما میزان تولید عروق جدید در گروه PRP بیشتر از گروه شاهد بود و پس از ۲ ماه، میزان ایجاد عروق جدید و همچنین تعداد ساقه‌های مو در گروه PRP بیشتر از گروه شاهد بود (۱۹).

#### د- نقش PRP در سایر ریزش موها

مقالات چاپ شده‌ی موجود در مورد کاربرد PRP در ریزش سکه‌ای و تلوزن افلوویوم بسیار ناچیز است. ۱- در مطالعه‌ی Greco و Brandt، این روش در یک بیمار مبتلا به آلوپسی آر‌آتا به عنوان مزوتراپی با نتایج خوب در بررسی ۱۰ ماهه همراه بود (۱۵). در مطالعه‌ی تصادفی کنترل شده توسط Trink و همکاران، PRP در ۴۵ بیمار مبتلا به ریزش سکه‌ای بررسی شد. ۳ جلسه PRP با فواصل یک ماهه منجر به افزایش واضح در رویش مجدد مو و کاهش دیستروفی مو و حس خارش و سوزش در یک پیگیری ۱ ساله شد. این مطالعه، در مقایسه با تزریق داخل ضایعه‌ی تریامسینولون یا دارو نما انجام شد (۲۶). از آن جا که بیماران مبتلا به آلوپسی آر‌آتا، اغلب بهبود خودبه‌خودی دارند و به خوبی به درمان

با موهای بسیار نازک و پراکنده در ناحیه‌ی دهنده با اطمینان بیشتر از زنده ماندن گرافت‌های کاشته شده، داشته باشد.

این مطالعه کلینیکی کور شده نبود و بررسی به وسیله‌ی شمارش دستی گرافت‌های مو صورت گرفته بود (تصویربرداری دیجیتال فقط در یک بیمار انجام شده بود) (۶).

۲- مطالعه‌ی توسط Perez-meza، در ۱۳ بیمار تحت درمان پیوند مو با PRP در ناحیه‌ی دهنده و گیرنده، انجام شد. ۱۰ بیمار به منظور بررسی ترمیم زخم و ۳ بیمار به منظور قابلیت بقای موها ارزیابی شدند. جهت تعیین قابلیت بقای موها، ۳ منطقه‌ی درمانی به ابعاد ۱ سانتی‌متر مربع در طرفین اسکالپ و ۱ منطقه‌ی دارو نما به عنوان شاهد انتخاب شد. ۲۰ شکاف توسط تیغه‌ی ۱/۳ با عمق ۴ میلی‌متر ایجاد شد. گرافت‌ها در مناطق تحت درمان در PRP فعال شده برای ۱۰ ثانیه قرار داده و سپس کاشته می‌شد. در بررسی یک ساله، شمارش موها در دو گروه مشابه بود (۲۵).

۳- در مطالعه‌ی Rinaldi و همکاران، از PRP به عنوان یک محیط اینکوبه در کاشت مو به روش FUT (Follicular unit transplant) در یک مطالعه‌ی کلینیکی دو سو کور کنترل شده (RCT) در ۱۰۰ بیمار مبتلا به ریزش موی آندروژنتیک استفاده شد. محققان کاهش در ریزش موی گسترده و تحریک رویش مو را بدون هیچ عوارض جانبی در یک بررسی ۱۸ ماهه دریافتند. ارزیابی آزمایشگاهی این مطالعه نشان داد که PRP می‌تواند از آپوپتوز درمال پاپیلا جلوگیری کند و مرحله‌ی رشد چرخه‌ی مو را افزایش دهد (۱۳).

۴- در مطالعه‌ی Duygu و همکاران اثربخشی

جواب می‌دهند، بنابراین نسبت دادن رویش مجدد موها به PRP مشکل به نظر می‌رسد.

### بحث

پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) یک فراورده‌ی اتولوگ پلاکتی است که در پلاسمای تغلیظ شده یافت می‌شود. اگر چه غلظت مناسب PRP نامشخص است، اما با روش‌های جاری غلظت‌های گزارش شده ۷۰۰-۳۰۰ درصد می‌باشد که باعث افزایش پلاکت‌ها تا ۱/۰۰۰۰/۰۰۰ پلاکت در میکرولیتر می‌گردد.

به دلیل وجود عوامل رشد متعدد با غلظت بالا، PRP در انواع متفاوتی از درمان‌های جراحی و دارویی از جمله ترمیم زخم‌ها، نواقص استخوان‌های صورت، فک، جراحی‌های زیبایی، جراحی‌های دستگاه گوارش و در سال‌های اخیر در درماتولوژی به خصوص در زمینه‌ی زیبایی و جوان‌سازی پوست مورد توجه قرار گرفته است (۲۷).

کاربرد PRP از ۱۵ سال پیش در حال گسترش بوده است و به خصوص، مصرف کلینیکی آن در درمان زخم پوستی در حال افزایش است (۲۸). کاربرد PRP در درماتولوژی در خصوص استفاده از آن در پیوند مو، آلوپسی آندروژنتیک، جوان‌سازی و ترمیم زخم می‌باشد.

در مورد کاربرد PRP در پیوند مو، یک کارآزمایی بالینی تصادفی کنترل شده و دو گزارش Case series مطرح می‌باشد که در یک پیگیری ۷ ماهه منجر به افزایش تراکم و رشد مو به میزان ۱/۱۵ درصد در اثر آغشته کردن واحدهای فولیکول با PRP گزارش شده است و در مطالعه‌ی دوم، در پیگیری یک ساله، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است.

این روش درمانی به عنوان یک مدالیته‌ی درمانی غیر وابسته یا به عنوان یک درمان کمکی در کاشت مو جهت افزایش حیات گرافت‌های کاشته شده به کار می‌رود که به ۳ شکل می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد:

- گرافت‌های مو قبل از کاشته شدن ۱۵ دقیقه در PRP قرار بگیرند تا میزان زنده ماندن آن‌ها پس از کاشت مو افزایش پیدا کند.

- PRP قبل یا بلافاصله پس از کاشت مو به محل گیرنده تزریق شود.

- PRP به صورت تزریقی در محل و اطراف منطقه‌ی دهنده (خط برش) در عمل جراحی FUT منجر به کاهش خونریزی، تحریک ترمیم زخم و کاهش اسکار می‌شود.

شواهد موجود، اثربخشی PRP در پیوند مو را تأیید می‌کند؛ اما نیازمند مطالعات با طراحی دقیق‌تر و انجام کارآزمایی بالینی جهت بررسی غلظت و پارامترهای مربوط به دوز PRP و زمان‌های تزریق پس از پیوند مو می‌باشد.

در یک نگاه کلی به شواهد محدود موجود از مقالات در دسترس نیاز به مطالعات وسیع‌تر، با طراحی بهتر و نیز زمان بررسی طولانی‌تر وجود دارد. این فرضیه، همچنان مطرح است که اثرات کلینیکی مفید به دست آمده از کاربرد PRP به عنوان درمان منفرد یا به عنوان درمان کمکی در جراحی پیوند مو، یک فرایند درمانی ارزشمند است، اما مطالعات دقیق که PRP را با روش‌های درمانی کمکی (Adjuvant) در مقالات چاپ شده‌ی فعلی مقایسه کند، ضروری به نظر می‌رسد.

با توجه به عود ریزش مو پس از قطع درمان‌های دارویی، هنوز اثبات منافع PRP به عنوان یک پیشنهاد بالارزش مطرح است.

## References

- Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62(4): 489-96.
- Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: biology and new technology. *J Craniofac Surg* 2005; 16(6): 1043-54.
- Della VA, Sammartino G, Marenzi G, Tia M, Espedito di LA, Ferrari F, et al. Prevention of postoperative bleeding in anticoagulated patients undergoing oral surgery: use of platelet-rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61(11): 1275-8.
- Freymler EG, Aghaloo TL. Platelet-rich plasma: ready or not? *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62(4): 484-8.
- Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2004; 114(6): 1502-8.
- Uebel CO, da Silva JB, Cantarelli D, Martins P. The role of platelet plasma growth factors in male pattern baldness surgery. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118(6): 1458-66.
- Headington JT. Transverse microscopic anatomy of the human scalp. A basis for a morphometric approach to disorders of the hair follicle. *Arch Dermatol* 1984; 120(4): 449-56.
- Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001; 10(4): 225-8.
- Petrungaro P. The Use of platelet rich plasma with growth factors (autologous platelet gel) to enhance hard and soft tissue healing and maturation in the reconstruction of the maxillary pneumatized sinus. *Contemporary Periodontics and Implantology* 2001; 1(9).
- Bhanot S, Alex JC. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg* 2002; 18(1): 27-33.
- Garg AK. The use of platelet-rich plasma to enhance the success of bone grafts around dental implants. *Dent Implantol Update* 2000; 11(3): 17-21.
- Li ZJ, Choi HI, Choi DK, Sohn KC, Im M, Seo YJ, et al. Autologous platelet-rich plasma: a potential therapeutic tool for promoting hair growth. *Dermatol Surg* 2012; 38(7 Pt 1): 1040-6.
- Rinaldi F, Sorbellini E, Coscera T. The role of platelet rich plasma to control anagen phase: Evaluation in vitro and in vivo in hair transplant and hair treatment. *Int J Trichol* 2011; 3(Suppl 1): S14-S15.
- Kang JS, Zheng Z, Choi MJ, Lee SH, Kim DY, Cho SB. The effect of CD34+ cell-containing autologous platelet-rich plasma injection on pattern hair loss: a preliminary study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014; 28(1): 72-9.
- Greco J, Brandt R. The effects of autologous platelet rich plasma and various growth factors on non-transplanted miniaturized hair. *Hair Transplant Forum Int'l* 2009; 19(2): 49-50.
- Lopez V, Vaya A, Bautista D, Ricart JM. Autologous platelet-rich plasma as a potential therapeutic tool in androgenetic alopecia. *J Am Acad Dermatol* 2013; 68: SAB103.
- Park KY, Kim HK, Kim BJ, Kim MN. Letter: Platelet-rich plasma for treating male pattern baldness. *Dermatol Surg* 2012; 38(12): 2042-4.
- Takikawa M, Nakamura S, Nakamura S, Ishirara M, Kishimoto S, Sasaki K, et al. Enhanced effect of platelet-rich plasma containing a new carrier on hair growth. *Dermatol Surg* 2011; 37(12): 1721-9.
- Duygu C, Guneren E, Buyukpinarbasili N, Inan O. The effect of platelet rich plasma on the survival of follicles in hair transplantation: An experimental study on rats. *Surgical Research Updates* 2014; 2(2): 43-8.
- Khatu SS, More YE, Gokhale NR, Chavhan DC, Bendsure N. Platelet-rich plasma in androgenic alopecia: myth or an effective tool. *J Cutan Aesthet Surg* 2014; 7(2): 107-10.
- Betsi EE, Germain E, Kalbermatten D, Tremp M, Emmenegger V. Platelet-rich plasma injection is effective and safe for the treatment of alopecia. *Eur J Plast Surg* 2013; 36(7): 407-12.
- Cervelli V, Garcovich S, Bielli A, Cervelli G, Curcio BC, Scioli MG, et al. The effect of autologous activated platelet rich plasma (AA-PRP) injection on pattern hair loss: clinical and histomorphometric evaluation. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 760709.
- Rogers N. Commentary on Autologous platelet-rich plasma: a potential therapeutic tool for promoting hair growth. *Dermatol Surg* 2012; 38(7 Pt 1): 1047-8.
- Mackie AR, Klyachko E, Thorne T, Schultz KM, Millay M, Ito A, et al. Sonic hedgehog-modified human CD34+ cells preserve cardiac function after acute myocardial infarction. *Circ Res* 2012; 111(3): 312-21.
- Perez-Meza D. Part II The use of autologous rich and poor plasma to enhance the wound healing and hair growth in hair restoration. *Proceedings of the 13<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the International Society of Hair Restoration Surgery*; [2005 August 24-28]; Sydney, Australia.



26. Trink A, Sorbellini E, Bezzola P, Rodella L, Rezzani R, Ramot Y, et al. A randomized, double-blind, placebo- and active-controlled, half-head study to evaluate the effects of platelet-rich plasma on alopecia areata. *Br J Dermatol* 2013; 169(3): 690-4.
27. Kim DH, Je YJ, Kim CD, Lee YH, Seo YJ, Lee JH, et al. Can Platelet-rich Plasma Be Used for Skin Rejuvenation? Evaluation of Effects of Platelet-rich Plasma on Human Dermal Fibroblast. *Ann Dermatol* 2011; 23(4): 424-31.
28. Martinez-Zapata MJ, Marti-Carvajal AJ, Sola I, Exposito JA, Bolibar I, Rodriguez L, et al. Autologous platelet-rich plasma for treating chronic wounds. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 10: CD006899.

## Review on Using Platelet Rich Plasma in Hair Loss and Hair Transplantation

Fariba Jaffary MD<sup>1</sup>, Mohammad Ali Nilforoushzadeh MD<sup>2</sup>, Elaheh Haftbaradaran MD<sup>3</sup>

### Review Article

#### Abstract

Literature review shows limited number of articles on platelet rich plasma (PRP) in various indications like androgenic alopecia, healing in chronic ulcers and skin rejuvenation. Platelet rich plasma seems to be rational therapy with science of growth factors in tissue regeneration. Level of evidence of various studies in androgenic alopecia is from low to medium. Though, platelet rich plasma is a newer technique in a dermatosurgeons' armamentarium that can be combined with other therapies. Well-defined double blind trials will definitely increase the confidence of clinicians in this procedure.

**Keywords:** Platelet rich plasma, Hair loss, Hair transplantation

**Citation:** Jaffary F, Nilforoushzadeh MA, Haftbaradaran E. **Review on Using Platelet Rich Plasma in Hair Loss and Hair Transplantation.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(339): 970-82

1- Professor, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran AND Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- General Practitioner, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Elaheh Haftbaradaran MD, Email: [elahe\\_md2003@yahoo.com](mailto:elahe_md2003@yahoo.com)

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

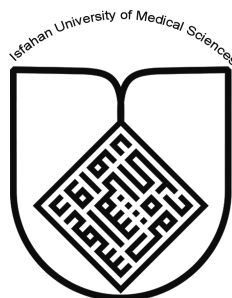
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
  - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

## INSTRUCTION TO AUTHORS

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

### ***Editorial Board (In alphabetical order)***

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



## JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 33, No. 339, 3<sup>rd</sup> Week, August 2015

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

---

### Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: [publications@mui.ac.ir](mailto:publications@mui.ac.ir)

### Office:

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

Telefax: +98 31 37922291

E-mail: [jims@med.mui.ac.ir](mailto:jims@med.mui.ac.ir)

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

### Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

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

Telefax: +98 31 36686302

E-mail: [esfahanfarzanegan@yahoo.com](mailto:esfahanfarzanegan@yahoo.com)

[f.radandish@gmail.com](mailto:f.radandish@gmail.com)

[www.farzaneganco.ir](http://www.farzaneganco.ir)

Circulation: 500

---

### This journal is indexed in the following international indexers

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

---

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

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