



مقاله های پژوهشی

مقایسه اثر رژیم غذایی کاهنده فشارخون با رژیم کم کالری بر سطوح سرمی اسپکسین، لپتین و آدیپونکتین در بزرگسالان دارای اضافه وزن و چاق: یک کارآزمایی بالینی ۹۲۰
حامد جعفری وایقان، جلال مولودی

مقایسه عملکرد آنزیم T7 اندونوکلئاز ۱ و سیستم الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید در ارزیابی کارایی برش سیستم CRISPR/Cas9 ... ۹۲۹
نسیم مایلی فریدنی، حمید گله‌داری، الهام حویزی، منیره عجمی

مقایسه اثر کافئین و دوکسپرام بر پارامترهای تنفسی و همودینامیک بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه پس از عمل جراحی ستون فقرات ۹۳۸
بابک علی کبابی، سید تقی هاشمی، محمدحسن هوشمندی، علی مهرابی کوشکی



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال پنجم و یکم، شماره (۷۴۰)، آذر ۱۴۰۲

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

سر دبیر افتخاری: دکتر روبا کلیشادی

مدیر مسؤول: دکتر سید مرتضی حیدری

سر دبیر: دکتر رضا خدیوی

ناشر:

انتشارات آرمان پژوه حکیم

Email: armri.org@gmail.com

<http://armri.org>

تلفن: ۰۳۱-۳۶۵۳۲۳۴۵

دورنگار: ۰۳۱-۳۶۵۳۲۳۴۵

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

Email: publication@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مدیر اجرایی: دکتر مرجان زارعیان مسؤول دفتر: بنت الهدی حیدری

تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷ دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱

Email: jims@med.mui.ac.ir

وبسایت مجله: <http://jims.mui.ac.ir>

این مجله در نمایه‌های زیر در دسترس قرار دارد.

- Scopus
- Embase
- Chemical Abstracts
- Directory of Open Access Journals (DOAJ)
- Google Scholar
- Islamic World Science Citation Center (ISC)
- WHO/EMRO/Index Medicus
- Scientific Information Database (SID)
- Academic Search Complete EBSCO Publishing databases
- Magiran
- Index Copernicus
- Index Academicus
- Iran Medex

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

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

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

نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی
۱- دکتر محمدرضا اخلاقی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ و پتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر علی اخوان	استادیار، متخصص رادیوتراپی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، فوق تخصص غدد، مرکز پزشکی دانشگاهی کیولند، کیولند، آمریکا
۵- دکتر احمد اسماعیل زاده	استاد، دکترای تخصصی تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- دکتر شاهین امامی	دکترای تخصصی بیوشیمی، بیمارستان سن آنتونیو، انستیتو سلامت و تحقیقات پزشکی، پاریس، فرانسه
۷- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۸- دکتر رضا امین	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، فوق تخصص بیماری‌های ایمونولوژی و آلرژی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۹- دکتر فریبا ایرجی	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۰- دکتر کن باست	استاد، متخصص ابتکارات درمانی، دانشگاه بریتیش کلمبیا، ونکور، کانادا
۱۱- دکتر رضا باقریان سرارودی	دانشیار، دکترای تخصصی روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۲- دکتر مجید برکتین	استاد، متخصص روانپزشکی، فلوشیپ نوروسایکیاتری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- دکتر فرزین پور فرزاد	دکترای تخصصی زیست‌شناسی 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	استاد، متخصص مغز و اعصاب، فلوشیپ بیماری‌های حرکتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر علی حکمت‌نیا	استاد، متخصص رادیولوژی، فلوشیپ رادیولوژی مغز و اعصاب و کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۷- دکتر سید مرتضی حیدری	استاد، 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 خیرالهی	دانشیار، متخصص ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر مریم راداحمدی	دانشیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ و پتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۳- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ و پتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۴- دکتر محمدرضا شریفی	استاد، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۵- دکتر منصور شعله‌ور	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۶- دکتر رسول صالحی	استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۷- دکتر مسیح صبوری	استاد، متخصص جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر محمدرضا صفوی	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر خسرو عادل	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۳۰- دکتر سعید عندلیب جرتانی	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لوئیس ویل، آمریکا
۳۱- دکتر زیبا فرح‌زادگان	استاد، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۲- دکتر رویا کلیشادی	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۳- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر عزیز گهری	استاد، متخصص جراحی پلاستیک، دانشگاه بریتیش کلمبیا، ونکور، کانادا
۳۵- دکتر پروین محزونی	استاد، متخصص آسیب‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۶- دکتر سید مهدی مدرس زاده	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۷- دکتر محمد مردانی	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۸- دکتر عطیه مغیثی	دانشیار، فوق تخصص غدد داخلی، مرکز دیابت و غددشناسی مارینا، آمریکا
۳۹- دکتر مرجان منصوریان	استادیار، دکترای تخصصی اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۰- دکتر محمدرضا نوربخش	استاد، متخصص فیزیوتراپی، کالج جرجیای شمالی، آمریکا
۴۱- دکتر مصطفی هاشمی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

راهنمای نویسندگان

مجله علمی پژوهشی دانشکده پزشکی اصفهان، در پایگاه‌های:

Scopus, EMBASE, Chemical Abstracts, Directory of Open Access Journals (DOAJ), Google Scholar, Islamic World Science Citation Center (ISC), WHO/EMRO/Index Medicus, Scientific Information Database (SID), Academic Search Complete EBSCO Publishing databases, Index Copernicus, Index Academicus, Iran Medex

نمایه می‌شود. این مجله هر هفته بصورت الکترونیکی، تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد.

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

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

- الف- مقالات پژوهشی اصیل: مقالات علمی- پژوهشی با حداکثر حجم ۲۵۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مآخذ ۳۰ عدد می‌باشد.
- ب- مقالات کوتاه پژوهشی: مقالات علمی کوتاه پژوهشی با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مآخذ ۱۵ عدد می‌باشد.
- ج- مقالات مروری: مقالات مروری (Review Article) از نویسندگان مجرب و صاحب مقالات پژوهشی در زمینه مورد بحث پذیرفته خواهد شد. اصول کلی نگارش مشابه سایر مقاله‌های پژوهشی است. این نوع مقالات با حداکثر ۷۰۰۰ کلمه می‌باشند. در فهرست منابع حداقل ۶ مرجع مورد استفاده می‌بایستی متعلق به نویسنده باشد (با حداقل چهار مقاله از شش مقاله به عنوان نویسنده اول و یا نویسنده مسؤل). مقالات مرور سیستماتیک و متاآنالیز از این شرط مستثنی هستند.
- د- نامه به سردبیر: نامه به سردبیر می‌تواند نقد یکی از مقالات چاپ شده در این مجله باشد که با بحثی کوتاه، همراه با درج فهرست منابع نگاشته شود. همچنین نامه به سردبیر می‌تواند به صورت ارائه مشاهدات علمی حاصل از آخرین تحقیقات موجود در رابطه با یک موضوع مهم برای اطلاع رسانی به خوانندگان مجله تنظیم شده باشد. نامه به سردبیر با حداکثر ۵۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مآخذ ۵ عدد می‌باشد. در صورتیکه نامه به سردبیر در رابطه با نقد یک مقاله چاپ شده قبلی باشد، نقد مقاله برای نویسنده مسؤل مقاله مورد نقد، ارسال خواهد شد و همراه با پاسخ وی، در صورت تصویب شورای نویسندگان به چاپ خواهد رسید.
- ه- تحقیقات کیفی: تحقیقات کیفی با حداکثر ۳۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مآخذ ۳۰ عدد می‌باشد.
- ز- گزارش موردی: گزارش‌های موردی شامل گزارش موارد نادر یا جالب است و باید شامل چکیده، مقدمه، گزارش موردی، بحث، نتیجه‌گیری، سپاس‌گزاری و منابع باشد. گزارش موردی با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۵، سقف منابع و مآخذ ۱۵ عدد می‌باشد.

نحوه ارسال دست نوشته‌ها در سامانه الکترونیک مجله

لازم است ابتدا نویسندگان محترم پس از آماده سازی دست نوشته خود مطابق راهنمای نویسندگان این مجله و آماده نمودن فایل‌های مربوطه، در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی اصفهان به آدرس <http://jims.mui.ac.ir> وارد شده و از طریق لینک ثبت نام، نسبت به تکمیل مراحل ثبت نام (registration)، اقدام نمایند. پس از دریافت نام کاربری و رمز عبور می‌توانند وارد صفحه شخصی خود شده و مراحل ارسال دست نوشته را تکمیل نمایند. آن دسته از نویسندگان که برای بار دوم تصمیم به سابمیت دست نوشته جدید دارند، نیازی به ثبت نام مجدد نداشته و با نام کاربری و رمز عبور قبلی می‌توانند اقدام به سابمیت دست نوشته جدید نمایند. نویسندگان برای ارسال دست نوشته اصلاح شده خود باید از طریق صفحه شخصی قبلی خود اقدام نموده و به هیچ عنوان دوباره به عنوان کاربر جدید و با ایمیل جدید در سامانه ثبت نام نکنند.

از نویسندگان گرامی تقاضا می‌شود، در زمان ارسال دست نوشته خود، به نکات زیر توجه فرمایند:

۱. زبان رسمی مجله، فارسی است. لذا مقالات فقط به زبان فارسی (همراه با چکیده انگلیسی) قابل پذیرش هستند.

۲. دست نوشته باید پژوهشی و حاصل تحقیق نویسنده یا نویسندگان در زمینه علوم پزشکی پایه و بالینی بوده که پیش از این به انگلیسی یا فارسی در سایر مجلات منتشر نشده باشد و یا به طور همزمان به مجلات دیگر نیز ارسال نگردیده باشد. ضمناً نویسندگان محترم بعد از چاپ دست نوشته خود در مجله دانشکده پزشکی اصفهان، حق انتشار این دست نوشته را به زبان‌های دیگر در سایر مجلات ندارند. دست نوشته‌های ترجمه شده در این مجله مورد پذیرش قرار نمی‌گیرند.

۳. دست نوشته‌های منتج از تحقیقات کارآزمایی بالینی، لازم است، پیش از ارسال برای انتشار، در یکی از مراکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی مانند: مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران IRCT به آدرس: <http://www.irct.ir> ثبت شده و بعد از تایید آن، کد ۱۶رقمی تایید انجام کارآزمایی بالینی، در صفحه عنوان دست نوشته درج گردد.

۴. با توجه به اینکه فرآیند داوری به صورت Peer review و به صورت blind انجام می‌شود، لذا لازم است، متن اصلی دست نوشته فاقد اسامی و یا مشخصات نویسندگان و یا سایر همکاران در آن تحقیق باشد. لازم است، اسامی و سایر مشخصات نویسندگان دست نوشته (که طبق اصول اخلاق نشر، حق نویسندگی دارند) و قسمت تقدیر و تشکر، در فایل صفحه عنوان، درج گردند. بدیهی است، دست نوشته‌هایی که در متن اصلی آن‌ها، اسامی و مشخصات نویسندگان موجود باشد، به منظور اصلاح به نویسندگان عودت داده می‌شود.

۵. ارسال مقاله منحصراً از طریق سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی باید انجام شود لازم است، فقط نویسنده مسؤول (نویسنده پاسخگو) اقدام به سابمیت دست نوشته نماید. دست نوشته‌ی که توسط سایر نویسندگان یا اشخاص دیگر سابمیت شوند مورد بررسی قرار نخواهند گرفت.

۶. علاوه بر درج اسامی تمامی نویسندگان در صفحه عنوان، لازم است اسامی نویسندگان دست نوشته به همراه کد ORCID هر یک از آنان، در محل مربوطه در سامانه وارد گردد.

۷. پس از بارگذاری دست نوشته در سامانه مجله، تغییر اسامی نویسندگان تا قبل از صدور گواهی پذیرش، منوط به درخواست کتبی نویسنده مسؤول به همراه رضایت همه نویسندگان و ارائه دلیل منطقی برای این منظور می‌باشد. ولی پس از صدور گواهی پذیرش، امکان تغییر اسامی نویسندگان و یا جابجایی ترتیب نام نویسندگان، به هیچ عنوان امکان پذیر نمی‌باشد.

۸. فایل‌هایی که نویسندگان لازم است در مرحله اول در وب سایت الکترونیک این مجله به ترتیب آپلود نمایند، عبارتند از:

(۱) فایل متن اصلی دست نوشته، (۲) فایل صفحه عنوان، (۳) فایل تعهد نامه امضا شده، (۴) نامه به سردبیر (Cover letter). فایل‌های ارسالی می‌بایست صرفاً با فرمت word تهیه شود. ارسال فایل‌ها با فرمت PDF قابل قبول نمی‌باشد.

نحوه تنظیم فایل‌های اصلی

الف) صفحه عنوان: این صفحه باید شامل عنوان کامل دست نوشته، عنوان مکرری (عنوان کوتاه)، اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش، مؤسسه محل فعالیت ایشان و پست الکترونیکی همه نویسندگان. ذکر آدرس، تلفن، فاکس نویسنده مسؤول (نویسنده پاسخگو) دست نوشته ضروری می‌باشد.

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

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

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

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

ب) تعهدنامه: لازم است فرم تعهدنامه از قسمت راهنمای نویسندگان این مجله دانلود شده و توسط کلیه نویسندگان محترم دست نوشته به دقت مطالعه گردد. نویسنده مسؤول (نویسنده پاسخگو) دست نوشته، به نمایندگی از طرف کلیه نویسندگان دست نوشته، آنرا پرنیت نموده و بعد از تیک زدن گزینه‌ها، در پایان با خودکار امضا نمایند. سپس از فایل امضا شده، اسکن تهیه نمایند و همراه با فایل اصلی دست نوشته و فایل صفحه عنوان (و فایل نامه به سردبیر)، در وب سایت این مجله بارگذاری نمایند.

ج) فایل اصلی دست نوشته می‌بایست دارای قسمت‌های زیر به ترتیب باشد:

چکیده، مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع. فایل اصلی دست نوشته حتماً می‌بایست بدون نام نویسندگان باشد. در صورت نیاز نویسندگان می‌توانند فایل‌های اضافی حاوی جداول اضافی، تصاویر اضافی، پرسشنامه و چک لیست‌های مورد استفاده در این تحقیق را به عنوان فایل‌های ضمیمه با انتخاب گزینه "غیره" بارگذاری نمایند.

تذکر: برای بارگذاری فایل‌های اضافه لازم است نویسندگان یک بار از سامانه خارج شوند و پس از ورود مجدد، امکان بارگذاری فایل‌های اضافی برقرار می‌گردد.

د) نامه به سردبیر (Cover letter): در نامه به سردبیر، لازم است موارد زیر مورد توجه قرار گیرد:

- برجستگی کار این پژوهش را نشان می‌دهد به عبارت دیگر این تحقیق نسبت به شواهد موجود چه دستاورد جدیدی داشته است.
- اگر نتایج این تحقیق و یا بخشی از دست نوشته در کنفرانس‌ها، ارائه شده است، مشخصات کامل آن کنفرانس و شیوه ارائه داده‌های تحقیق حاضر را بیان نمایند.
- اگر دست نوشته حاضر قبلاً در این مجله ساب‌میت شده است و به هر دلیلی بایگانی شده است، ضمن اشاره به بایگانی شدن دست نوشته، شماره قبلی دست نوشته را بیان نمایند.

مشخصات چکیده

- دست نوشته‌ها باید دارای دو چکیده به زبان فارسی و انگلیسی باشند.
- تعداد کلمات چکیده بایستی حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد.
- چکیده بایستی شامل بخش‌های مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث و واژگان کلیدی باشد.
- چکیده انگلیسی بایستی دقیقاً معادل چکیده فارسی باشد و به ترتیب شامل بخش‌های: **Keywords, Conclusion, Findings, Methods, Background** می‌باشد.
- واژگان کلیدی در پایان چکیده دست نوشته قرار می‌گیرد و شامل: سه الی پنج کلمه کلیدی که بایستی تنها با استفاده از راهنمای MeSH از آدرس (<http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>) استخراج گردند. {بهتر است کلمات کلیدی، از کلماتی انتخاب گردند که در جستجوهای بعدی خوانندگان این مقاله، به راحتی توسط موتورهای جستجوگر اینترنتی، کشف و به رؤیت آنان برسد و به عبارت دیگر، شانس دیده شدن این مقاله را در آینده بالا ببرد. بهتر است از کلمات کلیدی استفاده کنید که در عنوان دست نوشته نیامده‌اند زیرا خود عنوان دست نوشته نیز در موتور جستجوگرها نیز مورد توجه قرار می‌گیرد. بنابراین با انتخاب کلمات کلیدی که معرف مولفه‌های اصلی این تحقیق حاضر می‌باشند (اضافه بر کلمات ذکر شده در عنوان دست نوشته)، شانس دیده شدن مقالات در آینده بالا می‌رود.}

مشخصات متن اصلی دست نوشته

- قسمت مقدمه:

در این بخش، پیشینه تحقیق حاضر، سوالات موجود در مقابل محققین در رابطه با موضوع مورد تحقیق، آورده می‌شود. توجه گردد، نیازی به ارائه گسترده مطالب موجود در متون علمی منتشر شده نیست. لازم است در پاراگراف پایانی قسمت مقدمه دست نوشته، ضرورت اجرای این تحقیق به طور شفاف بیان شود. در واقع چرایی انجام این تحقیق حاضر، می‌بایست به درستی تبیین گردد. لازم است از کلی‌گویی خودداری شود و نوآوری‌های انجام شده در این تحقیق به طور برجسته بیان شود.

- روش‌ها:

در این قسمت لازم است، نوع مطالعه، زمان انجام مطالعه، مکان انجام مطالعه، جامعه آماری، معیارهای ورود و خروج به مطالعه و ابزارهای اندازه‌گیری به طور شفاف بیان شوند. 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 در فایل ضمیمه (آپلود نمودن در آیکون غیره) لازم است؛ شیوه تأمین روایی مشخص شود و توصیف دقیق فرآیند اجرایی برای رواسازی آن توضیح داده شود. چگونگی تعیین روش‌های مورد استفاده برای تأمین پایایی پرسش‌نامه و گزارش نتایج آزمون‌های آماری به کار گرفته شده جهت تأمین پایایی توضیح داده شود. در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

تبصره ۱: لازم است نویسندگان محترم هنگام بارگذاری دست نوشته، چک لیست‌های ارزیابی دست نوشته‌ها (متناسب با نوع دست نوشته، به عنوان مثال چک لیست و دیاگرام کنسورت برای مطالعات کارآزمایی بالینی) را تکمیل نموده و به عنوان فایل ضمیمه (آپلود نمودن در آیکون غیره) بارگذاری نمایند. چک لیست‌ها در وب سایت مجله در قسمت راهنمای نویسندگان، قابل بازیابی هستند.

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

تبصره ۲: ذکر کد اخلاق در پژوهش در همه مطالعات انسانی و حیوانی (به جز تحقیقات مروری) الزامی می‌باشد.

تبصره ۳: ذکر شماره شناسه مجوز کارآزمایی بالینی ۱۶ رقمی برگرفته از سامانه IRCT الزامی است.

- یافته‌ها:

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

- بحث:

بحث دست‌نوشته شامل پاراگراف‌های مختلف می‌باشد. در اولین پاراگراف این بخش، ابتدا با اشاره مختصر به دلیل اصلی انجام تحقیق، یافته اصلی 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.

در پاراگراف‌های بعدی، سایر یافته‌های اصلی و یا فرعی منتج از تحقیق حاضر، به ترتیب بیان می‌شوند و در مقایسه با نتایج گزارش شده از سایر تحقیقات دیگران، مورد نقد قرار می‌گیرد. لازم است، تفاوت‌های مشاهده شده در یافته‌های تحقیق حاضر در مقایسه با تحقیقات دیگران، و دلایل منطقی و یا احتمالی ایجادکننده این اختلافات، به بحث گذاشته شوند.

بهتر است در یک پاراگراف جدا، محدودیت‌های تحقیق حاضر بیان شود.

در قسمت پایانی قسمت بحث دست‌نوشته، لازم است تحت عنوان نتیجه‌گیری (Conclusion)، به طور مختصر، یافته/ یافته‌های اصلی منتج از تحقیق حاضر، بیان شوند.

- تداخل منافع (Conflict of Interest):

در انتهای فایل اصلی دست‌نوشته (قبل از رفرنس‌ها)، نویسنده یا نویسندگان محترم می‌بایست، هرگونه منافع مادی مانند: دریافت هزینه، حق‌الزحمه، مواد و تجهیزات، از دانشگاه‌ها، سازمان‌ها، نهادها، شرکت‌ها و یا منافع غیر مادی (منافع اداری و یا شغلی) در سازمان‌های دولتی و یا شرکت و مؤسسات خصوصی را می‌بایست به طور شفاف بیان نمایند. همچنین لازم است مواردی که انتشار یافته‌های مطالعه می‌تواند به آن‌ها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.

* الگوی تدوین دست‌نوشته‌ها

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

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

به دست‌نوشته‌هایی که خارج از فرمت ذکر شده ارسال گردند ترتیب اثر داده نخواهد شد.

- جدول‌ها:

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

- تصویر و نمودار:

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

تبصره ۱- اگر شکل یا جدولی از مرجع دیگری اخذ شده است، شماره مرجع در آخر عنوان جدول یا شکل نوشته شود و مشخصات مأخذ در بخش مراجع درج شود.

- اختصارات و نشانه‌ها:

تنها از اختصارات و نشانه‌های استاندارد استفاده شود و از ذکر عبارات‌های مخفف در عنوان و خلاصه مقاله خودداری گردد.

- در مورد هر کدام از عبارات‌های اختصاری که برای اولین بار در متن آورده شود، لازم است کلمات کامل آن عبارت اختصاری بیان شود (مگر این که مربوط به مقیاس‌ها و مقادیر استاندارد شناخته شده باشد).

- منابع:

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

- اگر منبع مورد نظر، یک مقاله چاپ شده است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

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

ششم، از عبارت "et al." استفاده شود.)

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

- منابع به صورت پایان‌نامه:

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

- منابع به صورت الکترونیکی - مجله الکترونیکی روی اینترنت:

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان مقاله (.) نام اختصاری مجله الکترونیکی (فاصله) [online] (سال نشر و ماه نشر در صورت لزوم) (:) دوره (شماره) (:) [شماره صفحات یا قاب‌ها] (.) [روز، ماه و سال دسترسی cited] (:) Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال: Mosharraf R, Hajian F. Occlusal morphology of the mandibular first and second premolars in Iranian adolescents. Inter J Dental Anthropol [Online] 2004; 5: [3 Screens] [cited 2006 Nov 13]; Available from: <http://www.jida.syllabapress.com/abstractsijda5.shtml>

- منابع به صورت صفحه وب:

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده [یا شرح پدیدآور] (.) عنوان (.) سال نشر در صورت دسترسی (:) [شماره صفحات یا قاب‌ها] [روز، ماه و سال دسترسی cited] (:) Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال: Dentsply Co. BioPure (MTAD) Cleanser. [2 screens] [cited 2006 Nov 26]. Available from: www.store.tulsadental.com/catalog/biopure.html

هزینه انتشار مقاله

انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است.

بعد از بارگذاری دست نوشته در وب سایت این مجله، دست نوشته‌ها توسط سردبیر مجله از لحاظ: موضوعی (نوآوری برای خوانندگان) و ساختاری و رعایت بخش‌های اصلی دست نوشته (طبق راهنمای نویسندگان این مجله) مورد بررسی اولیه قرار می‌گیرد. در صورت تایید اولیه دست نوشته توسط سردبیر، هزینه کل انتشار دست نوشته همراه با هزینه ساب‌میشن، محاسبه و از طریق پست الکترونیک به نویسنده مسؤول (نویسنده پاسخگو) دست نوشته اعلام می‌گردد. جدول آخرین مصوبه هیئت امنای دانشگاه علوم پزشکی اصفهان برای هزینه انتشار دست نوشته‌ها در مجله دانشکده پزشکی در زیر آمده است.

نکات مهم:

- طبق مصوبه هیئت امنای دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، هزینه ساب‌میشن، ۵۰٪ هزینه کل انتشار دست نوشته طبق جدول زیر می‌باشد: (مثلاً ۴۵۰۰۰۰۰ ریال برای دست نوشته‌های پژوهشی اصیل، مروری) می‌باشد.
- شروع فرآیند بررسی صرفاً منوط به پرداخت هزینه کارشناسی و ثبت فیش پرداختی در سایت مجله خواهد بود.
- پرداخت هزینه ساب‌میشن، فقط برای شروع و انجام فرآیند بررسی می‌باشد و تعهدی برای پذیرش دست نوشته ایجاد نمی‌کند.
- عدم پرداخت هزینه کارشناسی دست نوشته در مهلت مقرر به منزله انصراف از ادامه فرآیند کارشناسی محسوب می‌شود.
- وجوه واریز شده اولیه جهت کارشناسی دست نوشته (هزینه ساب‌میشن) حتی در صورت رد دست نوشته، غیرقابل برگشت می‌باشد.

جدول نحوه محاسبه هزینه‌های دریافتی برای انتشار دست نوشته‌ها در مجله دانشکده پزشکی اصفهان

نوع دست نوشته	تعداد کلمات مجاز	هزینه چاپ (ریال)	توضیحات
پژوهشی اصیل	۲۵۰۰	۹۰۰۰۰۰۰	در صورتی که تعداد کلمات مقاله از سقف مجاز بیشتر باشد در قبال هر ۵۰۰ کلمه اضافی، مبلغ ۱۰۰ هزار تومان به هزینه مقاله اضافه می‌شود.
مروری	۷۰۰۰	۹۰۰۰۰۰۰	
پژوهشی اصیل (مطالعات کیفی)	۳۰۰۰	۵۰۰۰۰۰۰	
گزارش مورد	۱۰۰۰	۲۵۰۰۰۰۰	
کوتاه	۱۰۰۰	۲۵۰۰۰۰۰	
نامه به سردبیر	۵۰۰	رایگان	

برای محاسبه هزینه دست نوشته، تعداد کل کلمات دست نوشته شامل: کلمات متن اصلی دست نوشته و منابع می‌گردد. (بدون در نظر گرفتن کلمات چکیده فارسی و انگلیسی، تا ۴ جدول و ۲ تصویر).

به ازای هر نمودار یا تصویر اضافی، تعداد ۳۰۰ کلمه به تعداد کلمات دست نوشته اضافه می‌گردد.

در صورت کاهش حجم دست نوشته در طول فرآیند کارشناسی، هزینه انتشار دست نوشته، کاهش می‌یابد.

در صورت پذیرش نهایی دست نوشته، هزینه باقیمانده به عنوان هزینه انتشار دریافت خواهد شد.

فیش پرداختی باید بنام نویسنده مسؤول باشد.

فیش پرداختی با کیفیت مطلوب اسکن شده و همزمان با بارگذاری دست نوشته، آپلود گردد.

فهرست مطالب

- مقایسه‌ی اثر رژیم غذایی کاهنده‌ی فشارخون با رژیم کم کالری بر سطوح سرمی اسپکسین، لپتین و آدیپونکتین در بزرگسالان دارای اضافه وزن و چاق: یک کارآزمایی بالینی ۹۲۰
حامد جعفری وایقان، جلال مولودی
- مقایسه‌ی عملکرد آنزیم T7 اندونوکلئاز I و سیستم الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید در ارزیابی کارایی برش سیستم CRIPSR/Cas9 ۹۲۹
نسیم مایلی فریدنی، حمید گله‌داری، الهام حویزی، منیره عجمی
- مقایسه‌ی اثر کافئین و دوکسایپرام بر پارامترهای تنفسی و همودینامیک بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه پس از عمل جراحی ستون فقرات ۹۳۸
بابک علی کیایی، سید تقی هاشمی، محمدحسن هوشمندی، علی مهرابی کوشکی

مقایسه‌ی اثر رژیم غذایی کاهش‌دهنده‌ی فشارخون با رژیم کم کالری بر سطوح سرمی اسپکسین، لپتین و آدیپونکتین در بزرگسالان دارای اضافه وزن و چاق: یک کارآزمایی بالینی

حامد جعفری وایقان^۱، جلال مولودی^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: چاقی، سبب التهاب مزمن با درجه‌ی پایین می‌شود که موجب برهم خوردن تعادل آدیپوکاین‌ها می‌گردد. رویکردهای غذایی برای متوقف کردن فشارخون بالا (DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension شامل غذاهایی با مشخصات ضد التهابی است. هدف این مطالعه، مقایسه‌ی رژیم DASH با رژیم غذایی کم کالری بر روی سطوح سرمی اسپکسین، لپتین و آدیپونکتین سرم در بزرگسالان دارای اضافه وزن و چاق بود.

روش‌ها: این مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی کنترل شده در ۱۲۰ نفر بزرگسالان چاق و اضافه وزن انجام شد. افراد مورد مطالعه به‌طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: ۱- تبعیت از رژیم غذایی DASH با کالری کاهش یافته، ۲- تبعیت از رژیم غذایی با کالری محدود و ۳- تبعیت از رژیم ایزو کالریک (گروه کنترل). افراد حاضر در مطالعه به مدت ۱۲ هفته تحت مداخله‌ی رژیمی قرار گرفتند و سطح سرمی آدیپوکاین‌های اسپکسین، لپتین و آدیپونکتین در ابتدا و انتهای مطالعه اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: پس از انجام مداخله، در گروه DASH، بطور معنی‌داری سطح سرمی آدیپونکتین افزایش و سطح سرمی لپتین کاهش یافت. در مورد گروه کم کالری تنها اثر بر روی آدیپونکتین معنی‌دار بود. کاهش متغیرها در گروه DASH در مقایسه با گروه کم کالری بیشتر بود. تفاوت بین سه گروه از لحاظ لپتین و آدیپونکتین معنی‌دار بود ولی در مورد اسپکسین تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: رژیم غذایی DASH با کالری کاهش یافته، سطح اسپکسین، لپتین و آدیپونکتین را بهبود می‌بخشد و ریسک فاکتورهای قلبی-عروقی را در مقایسه با رژیم کم کالری کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: آدیپونکتین؛ رژیم غذایی DASH؛ لپتین؛ چاقی؛ اسپکسین

ارجاع: جعفری وایقان حامد، مولودی جلال. مقایسه‌ی اثر رژیم غذایی کاهش‌دهنده‌ی فشارخون با رژیم کم کالری بر سطوح سرمی اسپکسین، لپتین و

آدیپونکتین در بزرگسالان دارای اضافه وزن و چاق: یک کارآزمایی بالینی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۴۰): ۹۲۸-۹۲۰

مقدمه

امروزه چاقی یک مشکل قابل توجه سلامت عمومی است که عمدتاً ناشی از عوامل ژنتیکی، افزایش کالری دریافتی و عدم فعالیت بدنی است (۱). ثابت شده است که چاقی و اضافه وزن با چندین بیماری از جمله دیابت، بیماری‌های قلبی-عروقی و انواع سرطان‌ها مانند سرطان سینه و کولون، همراه است؛ که همگی ناشی از پاسخ‌های التهابی در بدن هستند (۲).

چاقی و دریافت بالای غذا با تجمع و گسترش بافت چربی مرتبط است؛ سلول‌های چربی هیپرتروفیک ممکن است با برهم زدن

تعادل عوامل التهابی و ضد التهابی، نقش مهمی در شروع التهاب ایفا کنند (۳). در واقع، چاقی می‌تواند ترشحات بسیاری از آدیپوکاین‌ها که عمدتاً توسط بافت چربی ترشح می‌شوند را تغییر دهد. این آدیپوکاین‌ها عمدتاً شامل اسپکسین و لپتین هستند که در چندین فرایند بیولوژیکی مانند تنظیم جذب اسیدهای چرب آزاد با زنجیره‌ی بلند و ذخیره‌ی چربی بدن، تعدیل دریافت غذا و متابولیسم انرژی و همچنین تنظیم اثرات ضد التهابی، ضد دیابتی، ضد آتروژنیک و حساسیت به انسولین در بدن نقش مهمی دارند (۴). بنابراین، بسیاری از اختلالات مرتبط با افزایش توده‌ی بافت چربی و متعاقب آن بروز

۱- استادیار، گروه تغذیه، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۲- استادیار، گروه علوم تغذیه، دانشکده‌ی علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: جلال مولودی؛ استادیار، گروه علوم تغذیه، دانشکده‌ی علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

Email: jmoludi@yahoo.com

التهاب وجود دارد (۵).

آدیپونکتین و لپتین، هورمون‌هایی هستند که نقش مهمی در تنظیم متابولیسم گلوکز و چربی و همچنین تعادل انرژی دارند (۶). آدیپونکتین برای بهبود حساسیت به انسولین و جذب گلوکز در بافت‌های محیطی شناخته شده است، در حالی که لپتین، اشتها و مصرف انرژی را تنظیم می‌کند (۷). با توجه به ابعاد گسترده‌ی چاقی و اضافه وزن در جوامع امروزی، رژیم‌های غذایی مختلفی به منظور کاهش وزن و بهبود سلامتی ارائه شده‌اند. مطالعات قبلی درباره‌ی تأثیر رژیم‌های غذایی مختلف بر شاخص‌های بیوشیمیایی بدن انجام شده است. برای مثال، مطالعاتی نشان داده‌اند که رژیم‌های غذایی کم کالری می‌توانند باعث کاهش سطح انسولین و افزایش سطح لپتین شوند (۸). همچنین، رژیم‌های غنی از میوه و سبزی می‌توانند باعث افزایش سطح آدیپونکتین و کاهش سطح التهاب در بدن شوند (۹). همچنین نقش رژیم‌های گیاهی و کم کالری بر غلظت لپتین و آدیپونکتین مشاهده شده است (۱۰).

در این راستا، رژیم (Dietary Approaches to Stop Hypertension) DASH به عنوان یک رژیم غذایی محبوب می‌تواند فشارخون را کنترل کرده و خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی را کاهش دهد (۱۱). رژیم DASH بر روی میوه‌ها، سبزیجات، غلات و گوشت بدون چربی تمرکز کرده (۱۲) و همچنین سبب کاهش خطر ابتلا به سرطان، سندرم متابولیک و دیابت می‌شود (۱۳). با این حال، تأثیر این رژیم‌ها بر شاخص‌های بیوشیمیایی مهم مانند اسپکسین، لپتین و آدیپونکتین که نشان‌دهنده‌ی سلامتی سیستم ایمنی و مقاومت به بیماری‌ها هستند، هنوز مورد بررسی قرار نگرفته است. همچنین علیرغم تأثیر متقابل متابولیسم و عملکرد ایمنی، مکانیسم اساسی این اثرات ضد التهابی ناشی از رژیم غذایی در انسان به اندازه‌ی کافی بررسی نشده است. بنابراین این مطالعه با هدف مقایسه‌ی رژیم DASH با رژیم غذایی کم کالری بر سطح سرمی اسپکسین، لپتین و آدیپونکتین در بزرگسالان دارای اضافه وزن و چاق طراحی شد.

روش‌ها

شرکت‌کنندگان: این مطالعه یک کارآزمایی بالینی دوسوکور، تصادفی و کنترل شده بود که بر روی ۱۲۰ نفر دارای اضافه وزن یا چاق انجام شد. بر این اساس، مردان و زنان، ۲۰-۵۵ سال، با نمایه توده‌ی بدنی (BMI) ۲۵-۳۵ کیلوگرم بر متر مربع با نمونه‌گیری آسان انتخاب شدند. مطالعه‌ی حاضر که مطابق با اعلامیه‌ی هلسینکی انجمن پزشکی جهانی (۲۰۰۰) بود، توسط کمیته‌ی اخلاق در دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه (IR.KUMS.REC.1399.345) تأیید شد. همچنین در فهرست

کارآزمایی‌های بالینی ایران (IRCT20180712040438N5) به ثبت رسید. تمام شرکت‌کنندگان قبل از ثبت نام در مطالعه رضایتنامه آگاهانه کتبی را تکمیل و موافقت خود را جهت شرکت در مطالعه اعلام کردند. معیارهای ورود به مطالعه به شرح زیر بود: BMI ۳۵-۲۵ کیلوگرم بر متر مربع، دور کمر ۹۰ سانتی‌متر (زنان و مردان) و عدم تبعیت از رژیم غذایی خاص (به عنوان مثال، رژیم گیاهخواری یا رژیم کاهش وزن). شرکت‌کنندگان در صورت امتناع از شرکت یا داشتن سابقه‌ی سوء مصرف الکل یا مواد مخدر، اختلالات خوردن، بیماری روانی، دیابت (تحت درمان با انسولین یا داروهای ضد قند خون)، بیماری قلبی، کلیوی یا کبدی، سابقه‌ی جراحی چاقی یا اگر به مدت یک سال قبل یا در طول مداخله از داروهای ضد چاقی یا سایر داروهای مؤثر بر وزن بدن استفاده می‌کردند، از مطالعه خارج شدند.

حجم نمونه: حجم نمونه برای مطالعه بدون ریزش بر اساس میانگین ۴ کیلوگرم کاهش وزن (حداقل تفاوت مهم بالینی)، در هر دو گروه پس از ۳ ماه برآورد شد. با توان ۸۰ درصد و آلفای یک طرفه ۰/۰۵ و نرخ ریزش ۱۰ درصد، هر گروه به حداقل ۴۰ شرکت‌کننده نیاز داشت (۱۴).

تصادفی‌سازی: شرکت‌کنندگان در نسبت ۱:۱ در گروه DASH، گروه رژیم غذایی کم کالری و گروه شاهد به صورت تصادفی تقسیم شدند. تصادفی‌سازی بلوکی، بر اساس جنس و BMI انجام شد. یک متخصص آمار، لیستی از اعداد تولید شده به صورت تصادفی را با استفاده از رایانه ایجاد کرد. توالی تخصیص تصادفی شده، توسط شخص ثالثی که از مطالعه بی‌اطلاع بود، انجام شد. پس از انتساب به یک گروه، شرکت‌کنندگان و محققان کور در نظر گرفته شدند.

مداخلات غذایی: در طول دوره‌ی مداخله ۱۲ هفته‌ای، به شرکت‌کنندگان برنامه‌ی غذایی کم کالری و برنامه‌ی غذایی DASH داده شد. در گروه اول، برنامه‌ی کاهش وزن ۵ تا ۷ درصد با نرخ ۰/۵ تا ۱ کیلوگرم در هفته در طول مطالعه در نظر گرفته شد. کالری دریافتی بر اساس ویژگی‌های شرکت‌کنندگان و با هدف محدودیت انرژی روزانه (۵۰۰ کیلوکالری) کمتر از کل انرژی صرف شده در طول روز Total energy expenditure (TEE) تعیین شد. سپس میزان متابولیسم استراحت (RMR) را با استفاده از فرمول Mifflin ارزیابی کردیم و نیازهای انرژی پایه را در سطح فعالیت بدنی و اثر گرمایی غذا ضرب نمودیم (۱۵). در این گروه، رژیم غذایی شامل ۱۰-۱۵ درصد پروتئین، ۵۵-۶۰ درصد کربوهیدرات و ۲۵-۳۵ درصد چربی از کل کالری بود. سپس برنامه‌های غذایی بر اساس این محاسبات و طبق دستورالعمل‌های غذایی مبتنی بر غذا برای ایرانیان تنظیم شد (۱۶).

در گروه دوم، از برنامه‌ی غذایی DASH مؤسسه‌ی ملی قلب، ریه

پایبندی ۹۰ درصد بود.

در ابتدا و انتهای مطالعه پس از ۱۲-۱۰ ساعت ناشتایی، وزن بدن توسط ترازو سکا ساخت آلمان با دقت ۰/۱ کیلوگرم اندازه‌گیری شد. محاسبه‌ی دور کمر با استفاده از متر نواری غیر قابل ارتجاع سکا ساخت آلمان از وسط لبه‌ی پایینی آخرین دنده‌ی قابل لمس و بالای تاج ایلیاک و با دقت ۰/۵ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. BMI با تقسیم وزن بر حسب کیلوگرم در مجذور قد بر حسب متر (kg/m^2) محاسبه شد.

متغیرهای بیوشیمیایی: پس از یک شبانه روز ناشتا (۱۲ ساعت)، نمونه‌ی خون با رگ‌گیری از ورید آنتوکوبیتال و با استفاده از لوله‌های خلاء گرفته شد. سرم خون از خون کامل از طریق سانتریفیوژ با دور ۲۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه به دست آمد. نمونه‌ها تا زمان تجزیه در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. مقدار اسپکسین، لپتین و آدیپونکتین سرمی به روش الایزا و با استفاده از کیت تجاری و تغییرات برون‌آزمونی (دقت اندازه‌گیری) و حساسیت روش اندازه‌گیری با توجه به بروشور کیت‌ها برای اسپکسین، ۴/۱ درصد و ۲/۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر، برای آدیپونکتین ۲/۷ درصد و ۴/۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر، برای لپتین ۱/۶ درصد و ۱/۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر بود.

ارزیابی فعالیت بدنی: فعالیت بدنی با پیگیری سطح فعالیت شرکت‌کنندگان در طول مطالعه و با استفاده از پرسش‌نامه‌ی معتبر بین‌المللی فعالیت بدنی (International Physical Activity Questionnaire) اندازه‌گیری شد.

و خون و همچنین توصیه‌های مؤسسه‌ی ملی بهداشت برای طراحی این رژیم استفاده شد. ترکیب رژیم غذایی مورد مطالعه در گروه DASH شامل واحدهای روزانه زیر بود: ۸-۷ واحد غلات کامل؛ ۴ واحد میوه؛ ۵ واحد سبزیجات؛ ۳ واحد لبنیات (کم چرب)؛ ۴/۵ واحد گوشت بدون چربی؛ ۴ واحد در هفته حبوبات؛ ۱ واحد قند ساده. برنامه‌ی غذایی DASH شامل ۵۲-۵۵ درصد کربوهیدرات، ۱۶-۱۸ درصد پروتئین و ۳۰ درصد چربی کل بود (جدول ۱). سدیم پیشنهادی در رژیم غذایی DASH، ۲۴۰۰ میلی‌گرم در روز بود (۱۶). این رژیم در قالب تنظیم برنامه‌ی غذایی بود و خود شرکت‌کنندگان مواد آن را تهیه می‌کردند و تبعیت از رژیم با استفاده از ثبت غذایی ۳ روزه (۲ روز هفته در هفته‌های ۲، ۴، و ۶ و ۱ روز آخر هفته در هفته‌ی ۸ مداخله) تکمیل شده، در طول این مطالعه پایش شد. از نرم‌افزار Nutritionist IV (version 3.5, 1994) که برای غذاهای ایرانی سفارشی شده بود، استفاده کردیم تا دریافت‌های درشت و ریز مغذی‌های شرکت‌کنندگان را بر اساس ثبت غذایی ۳ روزه آن‌ها ارزیابی کنیم.

تمام شرکت‌کنندگان به مدت ۴۵ دقیقه توسط یک متخصص تغذیه مورد مشاوره قرار گرفتند تا در مورد هر یک از رژیم‌ها توضیحات جامع دریافت کنند. این مشاوره شامل برنامه‌ریزی واحدهای غذایی، استفاده از جانشین‌های غذایی و همچنین برنامه‌ی فعالیت فیزیکی با هدف کاهش وزن بود. همه‌ی شرکت‌کنندگان روزانه یک مکمل مولتی‌ویتامین/مولتی‌مینرال رایگان مصرف کردند (۱۷). به طور کلی، پروتکل مطالعه توسط شرکت‌کنندگان به خوبی رعایت شد و میزان

جدول ۱. یک نمونه برنامه‌ی غذایی دو روزه و رژیم کم کالری

رژیم DASH:					
روز اول:	روز دوم:				
صبحانه: ۱ فنجان (۹۰ گرم) جو دوسر با ۱ لیوان (۲۴۰ میلی‌لیتر) شیر بدون چربی، و نصف لیوان (۱۲۰ میلی‌لیتر) آب پرتقال تازه.	صبحانه: ۲ عدد نان تست با ۱ قاشق مرباخوری کره، ۱ قاشق غذاخوری (۲۰ گرم) ژله یا مربا، نصف فنجان (۱۲۰ میلی‌لیتر) آب پرتقال تازه و ۱ عدد سیب متوسط.				
میان وعده: ۱ عدد سیب متوسط و ۱ لیوان (۲۴۵ گرم) ماست کم چرب.	میان وعده: ۱ عدد موز متوسط.				
ناهار: ساندویچ ماهی تن و سس مایونز خانگی با ۲ تکه نان کامل، ۱ قاشق غذاخوری (۱۵ گرم) سس مایونز، ۱/۵ لیوان سالاد.	ناهار: ۱۹۰ گرم برنج قهوه‌ای و ۸۵ گرم سینه مرغ با یک لیوان سالاد.				
میان وعده: ۱ عدد موز متوسط.	عصرانه: نصف فنجان کمپوت هلو و ۱ لیوان ماست کم چرب.				
شام: ۱۹۰ گرم برنج قهوه‌ای و ۸۵ گرم سینه مرغ بدون چربی و ۱ قاشق مرباخوری (۵ میلی‌لیتر) روغن زیتون با نصف لیوان کلم بروکلی یا هویج.	شام: ۸۵ گرم ماهی قزل‌آلا با یک قاشق مرباخوری روغن کانولا با ۱ فنجان سیب‌زمینی آب‌پز و ۱/۵ لیوان سبزیجات پخته شده.				
یک نمونه دو روزه رژیم کم کالری					
صبحانه	میان وعده	ناهار	میان وعده	شام	بعد از شام
نیم لیوان شیر + ۱ عدد خرما + ۲ کف دست نان سنگک	۷ عدد بادام	سالاد + ۹ قاشق عدس پلو	نیم لیوان شیر + یک عدد سیب	۱ کاسه متوسط خوراکی کنگر	یک عدد سیب
۱ قوطی کبریت پنیر + ۲ کف دست نان سنگک + ۱ عدد گردو	نیم لیوان شیر	۱ کاسه ماست و خیار + ۲ کف دست نان سنگک	۱ عدد پرتقال	۱ تکه سینه مرغ + ۱ بشقاب کلم بروکلی بخارپز	۱ عدد سیب + نیم لیوان شیر

(ANCOVA) با کنترل مقادیر پایه و عوامل مخدوش‌کننده استفاده شد. مقادیر $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. آنالیز بر اساس اصل Intention to treat بود.

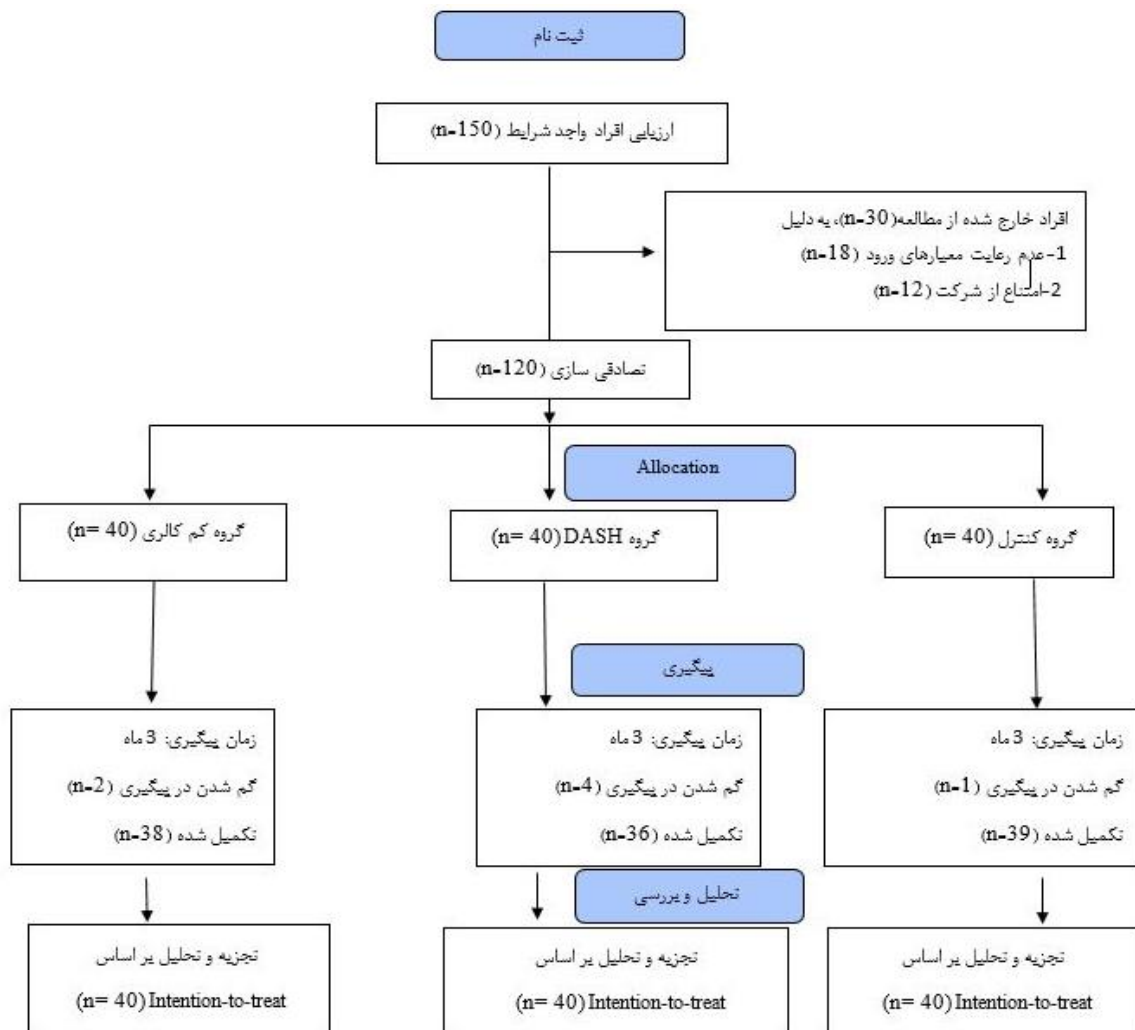
یافته‌ها

در مطالعه‌ی حاضر، تأثیر سه رژیم غذایی (کم کالری، DASH و کنترل) بر متغیرهای مورد مطالعه در افراد شرکت‌کننده بررسی شد. ۱۱۳ نفر از شرکت‌کنندگان مداخله را به اتمام رساندند اما بر اساس اصل ITT، تحلیل‌های مورد نیاز بر روی تمام شرکت‌کنندگان (۱۲۰ نفر) انجام شد (شکل ۱).

پس از پایان مداخله، وزن افراد در هر سه گروه کاهش یافت، اما این اختلاف بین گروه کم کالری، DASH و کنترل از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲).

ارزیابی فشارخون: فشارخون در بازوی راست در ابتدا و در پایان کارآزمایی با استفاده از فشارسنج جیوه‌ای با کاف با اندازه‌ی مناسب پس از ۱۵ دقیقه استراحت اندازه‌گیری شد.

برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (version 21, IBM Corporation, Armonk, NY) استفاده شد. آزمون Kolmogorov-Smirnov برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. داده‌های کمی نرمال و غیر نرمال به ترتیب بر اساس میانگین (انحراف معیار) یا میانگین هندسی (حداقل، حداکثر) گزارش گردید. برای گزارش داده‌های کیفی فراوانی (درصد) در نظر گرفته شد. برای مقایسه‌ی سه گروه در ابتدای مطالعه، داده‌های کیفی و کمی به ترتیب با آزمون Chi-Square و آنالیز واریانس یک طرفه انجام گرفت و از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. برای مقایسه‌ی سه گروه در انتهای مطالعه از آزمون تحلیل کوواریانس



شکل ۱. فلوچارت مطالعه

جدول ۲. ویژگی‌های افراد شرکت کننده در مطالعه

متغیر	گروه کم کالری (n = ۴۰)	گروه DASH (n = ۴۰)	گروه کنترل (n = ۴۰)	P**
سن (سال)	۴۱/۶۸ (۹/۶۶)	۴۴/۱۲ (۱۰/۲۲)	۴۱/۷۳ (۹/۶۶)	۰/۴۰۱°
جنسیت				
زن	۲۵ (۶۳)	۲۶ (۶۵)	۲۲ (۵۵)	۰/۷۲۵°°
فعالیت بدنی				
کم	۳۰ (۷۵)	۲۸ (۷۰)	۲۶ (۶۵)	۰/۱۵۶°°
متوسط	۱۰ (۲۵)	۱۲ (۳۰)	۱۴ (۳۳/۵)	
وزن (کیلوگرم)				
قبل از مداخله	۸۰/۲۲ (۱۲/۲۲)	۸۲/۲۰ (۹/۲۸)	۸۱/۹۰ (۱۱/۳۶)	۰/۹۱۸°
بعد از مداخله	۷۵/۷۱ (۱۱/۳۳)	۷۵/۱۲ (۱۲/۵۸)	۸۰/۱۰ (۱۳/۷۴)	۰/۶۹۲°
فشارخون سیستولیک (میلی متر جیوه)				
قبل از مداخله	۱۳۱/۱ (۱۱/۲)	۱۳۵/۱ (۹/۸)	۱۳۸/۶ (۱۲/۲۵)	۰/۷۵۰°
بعد از مداخله	۱۲۷/۲ (۱۲/۲)	۱۲۵/۱۲ (۱۱/۵)	۱۳۲/۲ (۱۲/۳)	۰/۰۶۵°
فشارخون دیاستولیک (میلی متر جیوه)				
قبل از مداخله	۸۸/۲ (۵/۱۰)	۹۰/۱ (۶/۱۲)	۹۱/۱ (۸/۲)	۰/۹۱۸°
بعد از مداخله	۸۶/۵ (۶/۲)	۸۵/۵ (۵/۵)	۹۰/۲ (۷/۴)	۰/۱۵۶°

مقادیر به صورت میانگین (انحراف معیار) برای داده‌های کمی و فراوانی (درصد) برای داده‌های کیفی گزارش شده‌اند.

One-Way ANOVA: **; Chi-square: °

معنی‌داری در دریافت انرژی بین سه گروه مشاهده نشد. همچنین بین سه گروه از لحاظ دریافت فیبر و روی، تفاوت معنی‌داری دیده نشد.

علاوه بر این، دریافت انرژی در گروه کم کالری ($P < ۰/۰۰۱$) و DASH ($P < ۰/۰۰۱$) به صورت معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۳). با این حال، پس از تعدیل متغیرهای مخدوشگر، تفاوت‌های

جدول ۳. مقایسه دریافت کالری، ریز مغذی‌ها و فیبر قبل و بعد از مداخله

متغیر	گروه کم کالری (n = ۴۰)	گروه DASH (n = ۴۰)	گروه کنترل (n = ۴۰)	P
انرژی (کیلوکالری در روز)				
قبل	۲۱۴/۳۷ ± ۲۰۳۲/۹۵	۲۰۸۸/۷۸ ± ۱۱۳۹/۶۷	۲۰۶۹/۵۵ ± ۲۵۶/۲۹	۰/۹۳۵°°
بعد	۱۷۲۳/۹۴ ± ۳۷۰/۹۷	۱۷۴۶/۶۹ ± ۶۸۵/۲۸	۱۹۹۶/۰۴ ± ۴۲۷/۵۲	۰/۱۰۸°°°
MD (95% CI), P [†]	-۳۰۹/۰۱ (-۴۳۰/۸۹-۱۸۷/۱۳)، ۰/۰۰۱	-۳۴۲/۰۹ (-۵۲۲/۳۵-۱۶۱/۸۴)، ۰/۰۰۱	-۷۳/۵۱ (-۵۲۷/۹۷-۱۰/۹۴)، ۰/۰۷۱	
روی (میلی گرم)				
قبل	۷/۷۶ ± ۳/۳۰	۷/۲۹ ± ۲/۶۷	۷/۳۶ ± ۲/۰۱	۰/۴۹۶°°
بعد	۷/۸۲ ± ۲/۷۰	۷/۶ ± ۲/۵۱	۷/۸۳ ± ۲/۰۶	۰/۹۳۵°°°
MD (95% CI), P [†]	۰/۶ (-۱/۱۳-۳/۲)، ۰/۸۶۷	۳/۰ (-۱/۱-۱۵/۹۰)، ۰/۳۹۷	۰/۲۰ (-۱/۳۶-۱۵/۶۵)، ۰/۰۹۸	
فیبر (گرم)				
قبل	۱۶/۵۰ ± ۶/۰۸	۱۴/۰۱ ± ۵/۲۹	۱۴/۰۰ ± ۴/۸۱	۰/۱۴۰°°
بعد	۱۸/۶۸ ± ۶/۸۴	۲۸/۳۹ ± ۵/۰۱	۱۴/۰۸ ± ۴/۸۴	۰/۰۶۳°°°
MD (95% CI), P [†]	۲/۱۷ (۰/۰۷-۴/۲۸)، ۰/۱۲۰	۱۴/۳۷ (-۳/۰۵-۳۱/۸۰)، ۰/۰۲۰	۰/۰۷ (-۰/۱۷-۰/۳۲)، ۰/۵۳۸	
سدیم (میلی گرم)				
قبل	۳۰۵۴/۰ ± ۳۳۲/۳	۳۱۵۲/۰ ± ۲۲۸/۳	۲۹۵۰/۰ ± ۲۳۰/۰	۰/۱۵۶°°
بعد	۲۸۵۰/۰ ± ۳۵۰/۳	۱۹۵۰/۰ ± ۱۵۰/۳	۲۹۰۰ ± ۷۴/۰۸	۰/۰۰۱°°°
MD (95% CI), P [†]	-۲۰۴/۰ (-۱۵۰/۰۷-۵۵/۲)، ۰/۰۷۵	-۱۲۰/۲۰ (-۲۵۰/۵-۵۵/۵)، ۰/۰۱۵	-۵۰/۰ (-۱۵۰/۱۵۰-۵۵/۰)، ۰/۱۵۰	
پتاسیم (میلی گرم)				
قبل	۳۰۵۰/۰ ± ۳۳۲/۳	۳۴۵۰/۰ ± ۳۵۰/۲	۳۲۵۰/۰ ± ۳۲۱/۴	۰/۹۵۶°°
بعد	۳۳۵۰/۰ ± ۲۵۵/۱	۵۵۵۰/۰ ± ۳۳۲/۵	۳۱۵۵/۰ ± ۳۳۲/۱	۰/۰۰۱°°°
MD (95% CI), P [†]	۳۰۰/۰ (۵۵-۵۵۱/۳۲)، ۰/۰۴۵	۲۱۰۵/۰ (۲۵۵/۳۲-۲۵۰/۱)، ۰/۰۰۱	۹۵/۰ (-۱۵/۱-۹۵/۲)، ۰/۱۶۵	

مقادیر به صورت میانگین (انحراف معیار) گزارش شده‌اند، Paired-samples T-test[†]; One-way ANOVA^{°°}; ANCOVA^{°°°} با تعدیل بر روی مقادیر پایه

جدول ۴. مقایسه سطح سرمی اسپکسین، لپتین و آدیپونکتین قبل و بعد از مداخله

متغیر	گروه کم کالری (n = ۴۰)	گروه DASH (n = ۴۰)	گروه کنترل (n = ۴۰)	P
لپتین (نانوگرم بر میلی لیتر)				
قبل	۲۳/۶۱ ± ۳/۴۴	۳۰/۵۰ ± ۴/۴۲	۲۵/۵۰ ± ۳/۵۵	۰/۳۲۹ ^{***}
بعد	۱۹/۲ ± ۱۳/۱۰۷	۱۲/۴۸ ± ۱/۵۴	۲۸/۵ ± ۱/۰۹	۰/۰۱۰ ^{***}
MD (95% CI), P*	-۳/۹۳ (۸/۱۳ - ۰/۴۷), ۰/۰۷۹	-۱۸/۰۲ (۲۷/۸۱ - ۳/۲۰), ۰/۰۰۱	-۲/۵۷ (۱۸/۰۳ - ۲۱/۵۵), ۰/۷۳۳	
آدیپونکتین (نانوگرم بر میلی لیتر)				
قبل	۱۵/۱۷ ± ۲/۱۲	۱۳/۸۲ ± ۲/۱۲	۲۳/۱۵ ± ۲/۶۷	۰/۸۹۹ ^{***}
بعد	۱۹/۴۴ ± ۲/۰۷	۲۳/۶۱ ± ۲/۵۰	۲۰/۷۱ ± ۳/۶۱	۰/۰۰۱ ^{***}
MD (95% CI), P*	۳/۹۵ (۰/۹۷ - ۶/۶), ۰/۰۱۱	۱۰/۲۱ (۵/۳۲ - ۱۴/۸), ۰/۰۰۱	-۲/۸ (-۸/۲۶ - ۵/۷), ۰/۳۱۸	
اسپکسین (نانوگرم بر میلی لیتر)				
قبل	۷۴۳/۲۲ ± ۱/۷۲	۷۲۴ ± ۱/۸۶	۷۵۰/۵۶ ± ۱/۶۲	۰/۸۲۰ ^{**}
بعد	۷۴۰/۱۳ ± ۲/۹۲	۷۲۲/۶۳ ± ۱/۹۷	۷۵۲/۵۱ ± ۳/۱۳	۰/۸۲۴ ^{***}
MD (95% CI), P*	-۳/۱۰ (۱/۱۱ - ۱/۹۳), ۰/۸۶۳	-۲/۳۲ (-۲/۲۱ - ۰/۴۳), ۰/۸۵۰	-۲/۰۲ (۰/۱۳ - ۲/۰۳), ۰/۸۸۸	

مقادیر به صورت میانگین (انحراف معیار) گزارش شده‌اند.

*Paired-samples T-test^{***}؛ **One-Way ANOVA^{***}؛ ANCOVA^{***} با تعدیل بر روی مقادیر پایه

در حالی که رژیم غذایی کم کالری در افزایش سطح آدیپونکتین مؤثر بود، تأثیر قابل توجهی بر سطوح اسپکسین نداشت (جدول ۴).

این یافته‌ها با مطالعات قبلی که اثرات مفید رژیم DASH را بر بیومارکرهای مختلف از جمله آدیپونکتین و لپتین نشان داده بودند، مطابقت داشت (۲۳). مطالعه‌ی Janiszewska و همکاران بیان کرد که رژیم غذایی DASH منجر به افزایش سطح آدیپونکتین در بزرگسالان دارای اضافه وزن شد (۲۴). متابولیک شد (۲۵). این یافته‌ها نشان می‌دهد که رژیم DASH ممکن است یک رویکرد موثر برای بهبود سلامت متابولیک در افراد دارای اضافه وزن و چاق باشد. در مقابل، مطالعه‌ی حاضر نشان داد که رژیم غذایی کم کالری تنها بر سطوح آدیپونکتین اثر قابل توجهی دارد، در حالی که هیچ تغییر قابل توجهی در سطوح اسپکسین مشاهده نشد. این یافته با مطالعات قبلی که اثرات مفید رژیم‌های کم کالری را بر سطوح آدیپونکتین نشان داده بودند، مطابقت داشت (۲۶).

مطالعه‌ای توسط Kord و همکاران دریافتند که یک رژیم غذایی کم کالری منجر به افزایش سطح آدیپونکتین در زنان دارای اضافه وزن و چاق می‌شود (۲۷). با این حال، مطالعه‌ی حاضر هیچ تغییر قابل توجهی در سطوح اسپکسین پیدا نکرد، که یک یافته‌ی جدید است و نیاز به بررسی بیشتر در مطالعات آینده دارد. رژیم DASH با کاهش فشارخون، بهبود متابولیسم لیپیدها و کاهش استرس اکسیداتیو سلامت متابولیک را بهبود می‌بخشد. این رژیم سرشار از میوه‌ها، سبزیجات، غلات کامل، منابع پروتئین بدون چربی و محصولات لبنی

همانطور که در جدول ۴ نشان داده شده است، سطح سرمی آدیپونکتین در گروه DASH، به طور قابل توجهی افزایش یافت و همچنین سطح سرمی لپتین کاهش یافت. در گروه کم کالری، تنها بر روی آدیپونکتین تأثیر معنی‌داری مشاهده شد. کاهش نسبت‌ها در گروه DASH در مقایسه با گروه کم کالری بیشتر بود. پس از تعدیل بر روی متغیرهای مخدوشگر، تفاوت‌های معنی‌دار بین سه گروه در مورد سطح سرمی آدیپونکتین (P = ۰/۰۰۱) و لپتین (P = ۰/۰۱) حاصل شد. اما در مورد اسپکسین، تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد (P = ۰/۸۲۴).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که رژیم غذایی DASH با کالری محدود، سطح لپتین و آدیپونکتین و همچنین ریسک فاکتورهای قلبی-عروقی مانند وزن را نسبت به رژیم کم کالری به طور معنی‌داری بهبود می‌بخشد. این یافته‌ها با مطالعات قبلی که اثرات مفید رژیم DASH را در بهبود پیامدهای سلامتی از جمله فشارخون، کلسترول و دیابت نشان داده‌اند، مطابقت داشت (۱۸). رژیم DASH همچنین با کاهش وزن و بهبود سلامت کلی مرتبط است (۱۹). به طور مشابه، رژیم‌های غذایی کم کالری و الگوهای سالم غذایی در کاهش وزن و بهبود نشانگرهای سلامتی مؤثر هستند (۶، ۲۰، ۲۱). در حالی که مطالعات قبلی اثرات مفید رژیم DASH را بر بیومارکرهای مختلف نشان داده‌اند (۲۲)، مطالعه‌ی حاضر شواهد بیشتری از اثربخشی آن در افزایش آدیپونکتین و کاهش سطح لپتین ارائه می‌کند. علاوه بر این،

تفسیر نتایج، آن‌ها را در نظر داشت. مانند: عدم اندازه‌گیری تمام آدیپوکاین‌ها و همچنین طول مداخله نسبتاً کوتاه. با توجه به عدم اندازه‌گیری عوامل التهابی توصیه می‌شود این موارد نیز در کنار سایر بیومارکرها در مطالعات آتی اندازه‌گیری شود.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که رژیم غذایی DASH با کالری محدود سطح لپتین و آدیپونکتین را بهبود می‌بخشد و در مقایسه با رژیم کم کالری به طور مؤثرتری ریسک فاکتورهای قلبی-عروقی را کاهش می‌دهد. با این حال، تحقیقات بیشتری برای تأیید این یافته‌ها و تعیین اثرات بلندمدت این رژیم‌ها بر نتایج کلی سلامت مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از طرح تحقیقاتی با کد رهگیری ۹۹۰۵۲۷ در معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه تصویب و با حمایت مالی دانشگاه به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات آن معاونت تقدیر و تشکر می‌شود.

کم چرب است که همگی منابع مواد مغذی ضروری و آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که می‌توانند حساسیت به انسولین را بهبود بخشند، التهاب و استرس اکسیداتیو را کاهش دهند که همگی از عوامل مهم در سلامت متابولیک هستند (۲۸، ۲۹).

اسپکسین یک پپتید اخیراً کشف شده است که نقشی در تنظیم متابولیسم انرژی و وزن بدن دارد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که سطوح اسپکسین در افراد چاق کاهش می‌یابد (۳۰). با این حال، مطالعه‌ی حاضر هیچ تغییر قابل توجهی در سطوح اسپکسین در پاسخ به DASH یا رژیم‌های غذایی کم کالری نیافت (جدول ۳). مکانیسم‌های اساسی عدم تغییرات قابل توجه در سطوح اسپکسین در مطالعه‌ی حاضر نامشخص است و نیاز به بررسی بیشتر دارد. بنابراین، یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که رژیم غذایی DASH ممکن است با افزایش سطح آدیپونکتین و کاهش سطح لپتین، سلامت متابولیک را بهبود بخشد، در حالی که رژیم غذایی کم کالری ممکن است در درجه‌ی اول سلامت متابولیک را با افزایش سطح آدیپونکتین بهبود بخشد.

این مطالعه دارای محدودیت‌های خاصی بود که باید هنگام

References

- Romieu I, Dossus L, Barquera S, Blotti re HM, Franks PW, Gunter M, et al. Energy balance and obesity: what are the main drivers? *Cancer Causes Control* 2017; 28(3): 247-58.
- Khanna D, Welch BS, Rehman A. *Pathophysiology of obesity*. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing; 2022.
- Kwaifa IK, Bahari H, Yong YK, Noor SM. Endothelial dysfunction in obesity-induced inflammation: molecular mechanisms and clinical implications. *Biomolecules* 2020; 10(2): 291.
- Lim CH, Lee MYM, Soga T, Parhar I. Evolution of structural and functional diversity of spexin in mammalian and non-mammalian vertebrate species. *Front Endocrinol* 2019; 10: 379.
- Gutierrez DA, Puglisi MJ, Hasty AH. Impact of increased adipose tissue mass on inflammation, insulin resistance, and dyslipidemia. *Curr Diab Rep* 2009; 9(1): 26-32.
- Jafari-Vayghan H, Tarighat-Esfanjani A, Asghari Jafarabadi M, Ebrahimi-Mameghani M, Ghadimi SS, Lalezadeh Z. Association between dietary patterns and serum leptin-to-adiponectin ratio in apparently healthy adults. *J Am Coll Nutr* 2015; 34(1): 49-55.
- Zhao S, Kusminski CM, Scherer PE. Adiponectin, leptin and cardiovascular disorders. *Circ Res* 2021; 128(1): 136-49.
- Saidi K, Nilholm C, Roth B, Ohlsson B. A carbohydrate-restricted diet for patients with irritable bowel syndrome lowers serum C-peptide, insulin, and leptin without any correlation with symptom reduction. *Nutr Res* 2021; 86: 23-36.
- Izadi V, Azadbakht L. Specific dietary patterns and concentrations of adiponectin. *J Res Med Sci* 2015; 20(2): 178-84.
- Tarighat Esfanjani A, Saleh-Ghadimi S, Ebrahimi-Mameghani M, Asghari Jafarabadi M, Ehteshami M, Moloudi J, et al. Relationship between leptin to adiponectin ratio and metabolic syndrome indices in apparently healthy adults. *Turk J Endocrinol Metab* 2020; 24(2): 122-31.
- Filippou CD, Tsioufis CP, Thomopoulos CG, Mihos CC, Dimitriadis KS, Sotiropoulou LI, et al. Dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet and blood pressure reduction in adults with and without hypertension: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Adv Nutr* 2020; 11(5): 1150-60.
- Hosseinpour-Niazi S, Hadaegh F, Mirmiran P, Daneshpour MS, Mahdavi M, Azizi F. Effect of legumes in energy reduced dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet on blood pressure among overweight and obese type 2 diabetic patients: a randomized controlled trial. *Diabetol Metab Syndr* 2022; 14(1): 72.
- Lari A, Sohoulı MH, Fatahi S, Cerqueira HS, Santos HO, Pourrajab B, et al. The effects of the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet on metabolic risk factors in patients with chronic disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2021; 31(10): 2766-78.
- Vasei MH, Hosseinpour-Niazi S, Ainy E, Mirmiran P. Effect of dietary approaches to stop hypertension

- (DASH) diet, high in animal or plant protein on cardiometabolic risk factors in obese metabolic syndrome patients: A randomized clinical trial. *Prim Care Diabetes* 2022; 16(5): 634-9.
15. Carol S. Ireton-Jones. Intake: Energy. In: Raymond J, Morrow K. Krause and Mahan's food and the nutrition care process. 15th ed. Canada, CA: Elsevier; 2021. p. 21-2.
 16. Eini-Zinab H, Sobhani SR, Rezazadeh A. Designing a healthy, low-cost and environmentally sustainable food basket: an optimisation study. *Public Health Nutr* 2021; 24(7): 1952-61.
 17. Dwyer JT, Allison DB, Coates PM. Dietary supplements in weight reduction. *J Am Diet Assoc* 2005; 105(5 Suppl 1): 80-6.
 18. Park Y-MM, Steck SE, Fung TT, Zhang J, Hazlett LJ, Han K, et al. Mediterranean diet, Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) style diet, and metabolic health in US adults. *Clin Nutr* 2017; 36(5): 1301-9.
 19. Blumenthal JA, Hinderliter AL, Smith PJ, Mabe S, Watkins LL, Craighead L, et al. Effects of lifestyle modification on patients with resistant hypertension: results of the TRIUMPH randomized clinical trial. *Circulation* 2021; 144(15): 1212-26.
 20. Kashyap A, Mackay A, Carter B, Fyfe CL, Johnstone AM, Myint PK. Investigating the Effectiveness of very low-calorie diets and low-fat vegan diets on weight and glycemic markers in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients* 2022; 14(22): 4870.
 21. Shahril MR, Zakarai NS, Appannah G, Nurnazahiah A, Mohamed HJJ, Ahmad A, et al. 'Energy-dense, high-SFA and low-fiber' dietary pattern lowered adiponectin but not leptin concentration of breast cancer survivors. *Nutrients* 2021; 13(10): 3339.
 22. Phillips CM, Harrington JM, Perry IJ. Relationship between dietary quality, determined by DASH score, and cardiometabolic health biomarkers: A cross-sectional analysis in adults. *Clin Nutr* 2019; 38(4): 1620-8.
 23. Guillermo C, Boushey CJ, Franke AA, Monroe KR, Lim U, Wilkens LR, et al. Diet quality and biomarker profiles related to chronic disease prevention: the Multiethnic Cohort Study. *J Am Coll Nutr* 2020; 39(3): 216-23.
 24. Janiszewska J, Ostrowska J, Szostak-Węgierek D. The influence of nutrition on adiponectin-A narrative review. *Nutrients* 2021; 13(5): 1394.
 25. Campbell TM, Campbell EK, Attia J, Ventura K, Mathews T, Chhabra KH, et al. The acute effects of a DASH diet and whole food, plant-based diet on insulin requirements and related cardiometabolic markers in individuals with insulin-treated type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2023; 202: 110814.
 26. Salehi-Abargouei A, Izadi V, Azadbakht L. The effect of low calorie diet on adiponectin concentration: a systematic review and meta-analysis. *Horm Metab Res* 2015; 47(08): 549-55.
 27. Kord HV, Tinsley GM, Santos HO, Zand H, Nazary A, Fatahi S, et al. The influence of fasting and energy-restricted diets on leptin and adiponectin levels in humans: a systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr* 2021; 40(4): 1811-21.
 28. Yu M, Ju M, Fang P, Zhang Z. Emerging central and peripheral actions of spexin in feeding behavior, leptin resistance and obesity. *Biochem Pharmacol* 2022; 202: 115121.
 29. Wong SK, Chin KY, Soelaiman I-N. Leptin, adiponectin and insulin as regulators for energy metabolism in a rat model of metabolic syndrome. *Sains Malays* 2019; 48(12): 2701-7.
 30. Behrooz M, Vaghef-Mehrabany E, Moludi J, Ostadrahimi A. Are spexin levels associated with metabolic syndrome, dietary intakes and body composition in children? *Diabetes Res Clin Pract* 2021; 172: 108634.

Comparison of the Effects of the DASH Diet with a Low-Calorie Diet on Serum Levels of Spexin, Leptin, and Adiponectin in Overweight and Obese Adults: A Clinical Trial

Hamed Jafari-Vayghan¹, Jalal Moludi²

Original Article

Abstract

Background: Chronic low-grade inflammation caused by obesity disrupts the balance of adipokines. The Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet includes anti-inflammatory foods that have positive effects on body composition and adipose tissue. This study aims to compare the effects of the DASH diet with a low-calorie diet on serum levels of Spexin, leptin, and adiponectin in overweight and obese adults.

Methods: This randomized controlled clinical trial enrolled 120 overweight and obese adults who were randomly assigned to one of three groups: 1) a DASH diet with reduced calories, 2) a restricted calorie diet, and 3) an isocaloric diet (control group). The intervention period lasted 12 weeks, during which serum levels of adipokines, Spexin, leptin, and adiponectin were measured at the beginning and end of the study.

Findings: After the intervention, serum levels of adiponectin significantly increased and leptin significantly decreased in the DASH group. In the low-calorie group, only the effect on adiponectin was significant. The reduction in these variables was greater in the DASH group than in the low-calorie group. The difference between the three groups was significant for leptin and adiponectin, but no significant changes were observed in Spexin levels.

Conclusion: The DASH diet with reduced calories was found to improve serum levels of Spexin, leptin, and adiponectin, and reduce the risk of cardiovascular factors compared to the low-calorie diet.

Keywords: Adiponectin; DASH diet; Leptin; Obesity; Spexin

Citation: Jafari-Vayghan H, Moludi J. Comparison of the Effects of the DASH Diet with a Low-Calorie Diet on Serum Levels of Spexin, Leptin, and Adiponectin in Overweight and Obese Adults: A Clinical Trial. J Isfahan Med Sch 2023; 41(740): 920-8.

1- Assistant Professor, Department of Nutrition, School of Health, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

2- Assistant Professor, Department of Nutrition Sciences, School of Nutrition Sciences & Food Technology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Corresponding Author: Jalal Moludi, Assistant Professor, Department of Nutrition Sciences, School of Nutrition Sciences & Food Technology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran; Email: jmoludi@yahoo.com

مقایسه‌ی عملکرد آنزیم T7 اندونوکلئاز I و سیستم الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید در ارزیابی کارایی برش سیستم CRISPR/Cas9

نسیم مایلی فریدنی^۱، حمید گله‌داری^۲، الهام حویزی^۳، منیره عجمی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ارزیابی کارایی برش آنزیم Cas9 در سیستم CRISPR (Clustered Regularly Interspersed Short Palindromic Repeat) و غربال‌گری جهش‌های ایجاد شده، یکی از چالش‌های این سیستم می‌باشد. این مطالعه روشی مبتنی بر استفاده از سیستم پلی‌اکریل‌آمید غیردنا توره، بدون نیاز به تشکیل هتروپلکس با کارایی بالا را پیشنهاد می‌کند.

روش‌ها: در این مطالعه، به منظور بررسی عملکرد سیستم CRISPR-Cas9، ابتدا توالی RNA راهنمای مناسب با توالی هدف، طراحی و سنتز شد. وکتور (PX458) pSpCas9(BB)-2A-GFP با استفاده از آنزیم BbsI برش داده و RNA راهنمای در جایگاه برش کلون شد. پلاسمید نوترکیب، استخراج و پس از تأیید صحت کلونینگ با استفاده از تکنیک توالی‌یابی، به رده‌ی سلولی HEK293T ترانسفکت گردید. پس از تأیید انتقال و تعیین درصد ترانسفکت توسط دستگاه فلوسایتومتری، DNA ژنومی سلول‌های حامل وکتور نوترکیب استخراج شد. دو واکنش PCR (Polymerase chain reaction) مختلف در ناحیه‌ی مورد نظر بر روی ژن بتاگلوبین انجام شد و درصد عملکرد آنزیم Cas9 با استفاده از آنزیم اندونوکلئاز T7I (T7EndonucleaseI) و سیستم پلی‌اکریل‌آمید غیردنا توره کننده ارزیابی گردید.

یافته‌ها: نتایج هضم آنزیمی T7E1 بر روی ژنوم، نشان‌دهنده‌ی عملکرد ۳۲ درصدی آنزیم Cas9 و نتایج سیستم پلی‌اکریل‌آمید غیردنا توره کننده، نشان‌دهنده‌ی عملکرد ۶۶ درصدی آنزیم بود. به این ترتیب سیستم پلی‌اکریل‌آمید غیردنا توره به طور قابل اعتمادی تغییرات کوچک به اندازه‌ی ۵-۱۰ جفت باز (bp) در طول اسید نوکلئیک در محل مورد نظر را نیز تشخیص می‌دهد.

نتیجه‌گیری: تکنیک PAGE می‌تواند جایگزین سنجش T7E1 به عنوان یک پروتکل معمول آزمایشگاهی برای ژنوتیپ کردن رده‌های سلولی انسانی تولید شده با سیستم CRISPR/Cas9 شود.

واژگان کلیدی: الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید؛ آنزیم T7 اندونوکلئاز I؛ CRISPR/Cas9؛ جهش ایندل

ارجاع: مایلی فریدنی نسیم، گله‌داری حمید، حویزی الهام، عجمی منیره. مقایسه‌ی عملکرد آنزیم T7 اندونوکلئاز I و سیستم الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید در ارزیابی کارایی برش سیستم CRISPR/Cas9. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۴۰): ۹۳۷-۹۲۹

شده است که عبارتند از مگانوکلئازها (Meganucleases)، نوکلئازهای انگشت-روی (Zinc-Finger Nucleases) ZFNs، افکتور نوکلئازهای شبه فعال‌کننده رونویسی (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) TALENs و سیستم‌های نوکلئاز مبتنی بر تناوب‌های کوتاه پالیندروم فاصله‌دار منظم خوشه‌ای (CRISPR) (۲-۴).

مقدمه

استفاده از اندونوکلئازهای اختصاصی جهت ایجاد برش در ناحیه‌ی مشخصی از یک ژن به منظور تحریک مکانیسم‌های ترمیم DNA، به طور قابل توجهی کارایی تکنیک‌های تصحیح ژن را در شرایط آزمایشگاهی بهبود بخشیده است (۱). تاکنون از کلاس‌های مختلفی از اندونوکلئازهایی با قابلیت برنامه‌ریزی جهت ویرایش ژنوم استفاده

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهیدچمران اهواز، اهواز، ایران

۲- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهیدچمران اهواز، اهواز، ایران

۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهیدچمران اهواز، اهواز، ایران

۴- استادیار، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: حمید گله‌داری؛ استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهیدچمران اهواز، اهواز، ایران

امروزه یکی از قدرتمندترین ابزارهای ویرایش ژنی، نوکلئازهای مرتبط با سیستم CRISPR می‌باشند (۲، ۵). سیستم نوکلئازی CRISPR / Cas9 کلاسی جدید از نوکلئازهای قابل برنامه‌ریزی است که از یک RNA راهنما به منظور آغاز فرایند شناخت توالی هدف استفاده می‌کند (۶)، در حالی که دومین قابل برنامه‌ریزی در مگانوکلئاز، ZFNs و TALENs بر پایه‌ی یک ساختار پروتئینی می‌باشند (۷، ۸). فعالیت کارآمد نوکلئاز Cas9 نیازمند حضور یک توالی RNA مکمل (crRNA) و توالی فعال‌کننده‌ی ترانس ساختار (Trans-activating CRISPR (tracrRNA) می‌باشد. ساختار tracrRNA: crRNA می‌تواند یا به صورت RNA دوتایی (۹) و یا یک راهنمای تک کیمریک (single guide RNA) مورد استفاده قرار گیرد (۱۰، ۱۱). RNA راهنما با توالی DNA مکمل خود هیبرید شده و اندونوکلئاز Cas9 را جهت اتصال و برش محل DNA مورد نظر به شرط حضور توالی PAM، به محل مورد نظر هدایت می‌کند (۱۲-۱۴). نوکلئاز Cas9 عمدتاً از طریق فعالیت دو دومین خود که بطور مستقل رشته‌ی مکمل (دومین NHN) و رشته‌ی غیر مکمل (دومین RuvC) را برش می‌زنند، شکست دورشته‌ای کور ایجاد می‌کند (۱۵). پس از تشخیص شکست دورشته‌ای، محل شکست توسط یک سیگنال مولکولی و اتصال ماشین‌های ترمیم از طریق سیستم ترمیم اتصال انتهاهای غیرهمولوگ (NHEJ (Non-Homologous End Joining یا ترمیم همولوگ مستقیم در حضور یک DNA الگوی دهنده، تحریک می‌گردد (۱۶). در مسیرهای وابسته به برش، تخریب نوکلئولیتیک در انتهای 5' DNA در محل شکست تحریک می‌شود و در نهایت می‌تواند منجر به ایجاد ایندل‌های ۱-۲۵ جفت بازی گردد (۱۷). ارزیابی کارایی نوکلئاز، یک گام اساسی برای ویرایش موفق ژنوم است، به ویژه در آزمایش‌هایی که در موجودات زنده و برای اهداف درمانی انجام می‌شود (۱۸). طیف گسترده‌ای از تکنیک‌های مختلف جهت ارزیابی اثربخشی ویرایش نوکلئازها استفاده می‌گردد. این روش‌ها از نظر هزینه، زمان مورد نیاز و داده‌های به دست آمده، با یکدیگر متفاوت می‌باشند. علاوه بر این، آن‌ها به تجهیزات مختلفی نیاز دارند که ممکن است از ابتدایی‌ترین ماشین‌های PCR و سیستم‌های الکتروفورز تا دستگاه‌های توالی‌یابی با توان بالای مدرن را شامل شود (۱۹) که هر کدام از نقاط قوت و محدودیت‌های خاصی برخوردار می‌باشند (۲۰). آنالیزهای (Restriction fragment length tracking of indels by RFLP polymorphism) TIDE (indel detection by amplicon decomposition) IDAA (engineered nuclease-induced translocations) analysis) ENIT (High-Resolution Melting) آنالیز منحنی ذوب DNA با کیفیت بالا (HRM) و T7 اندونوکلئاز (T7E1) همگی از روش‌های مبتنی بر

جهت شناسایی DNA ناهمگن در یک مکان خاص کارآمد هستند. با این حال، این روش‌های سنجش، قادر به شناسایی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (Single nucleotide polymorphisms) SNPs نیز می‌باشند که گاهی منجر به ایجاد نتایج مثبت کاذب در ناحیه‌ی ژنی مورد نظر می‌گردند (۲۱). اندونوکلئاز T7E1 که به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد، DNA دو رشته‌ای هترو دوپلکس نامتناسب را هدف قرار داده و هضم می‌کند و در نتیجه دو یا چند قطعه‌ی کوچک‌تر را در یک واکنش آنزیمی تولید می‌کند. قطعات DNA هضم شده را می‌توان با الکتروفورز ژل آگارز مشاهده کرد (۲۲). سنجش بر پایه‌ی آنالیز منحنی ذوب نیز نیازمند دستگاه PCR کمی، تجهیزات و نرم‌افزارهایی پیشرفته‌ای می‌باشد که منجر به افزایش هزینه‌ی آنالیز می‌گردد (۲۳). علاوه بر این، برای تغییرات بیش از ۱۵ جفت باز در طول اسید نوکلئیک در محل هدف مناسب می‌باشد (۲۴). این در حالی است که متوسط اندازه‌ی ایندل ناشی از CRISPR-Cas9 بسته به طول RNA راهنمای از ۶ تا ۱۳ جفت باز می‌باشد (۲۵).

یکی دیگر از مشکلات استفاده از این روش‌های مرسوم، علاوه بر زمان‌بر و پرهزینه بودن برای تعداد نمونه‌های بالا، نیاز به درصد بالایی از سلول‌های ترانسفکت شده جهت بررسی برش می‌باشد که در مورد سلول‌های سخت ترانسفکت شونده مانند سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک چالشی بزرگ محسوب می‌شود. بنابراین، استفاده از استراتژی‌های ساده و کارآمد برای تأیید حضور جهش‌های ایندل بسیار مطلوب است. در این مطالعه، یک روش مبتنی بر الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌امید (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) را برای تأیید برش موفقیت‌آمیز در ناحیه‌ی ژنی مورد نظر و حضور جهش‌های ایندل ناشی از سیستم CRISPR/Cas9، اعمال کرده‌ایم. در مقایسه با روش سنتی T7E1، روش مبتنی بر PAGE ثابت می‌کند که یک استراتژی کارآمدتر، با صرفه‌جویی در زمان و هزینه است.

روش‌ها

این مطالعه، بر روی رده‌ی سلول‌های جنینی کلیه‌ی انسان ترانسفرم شده با آنتی‌ژن T و ویروس SV40 (HEK293) تهیه شده از انستیتو پاستور ایران انجام شد. سلول‌های بدست آمده در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS، محلول پنی‌سیلین (۱۰۰ U/mL)، استرپتومایسین (۱۰۰ µg/mL) و ۲ mM L-گلوتامین کشت داده شد و در شرایط دمایی ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۵ درصد CO₂ و رطوبت ۹۵ درصد انکوبه گردید.

طراحی RNA راهنما: به منظور طراحی RNA راهنمای اختصاصی ژن HBB انسانی، توالی gRNA با الگوی 9NGG\GN

منظور خشتی شدن بافر P2 اضافه و تا نمایان شدن ابری سفید رنگ به آرامی مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۲ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ سانتریفوژ شده و سپس محلول رویی به آرامی به ستون منتقل گردید. ستون ۱ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰ g سانتریفوژ شده و توسط بافرهای شستشو، شستشو داده شد. در نهایت ۵۰ میکرولیتر بافر حل‌کننده به ستون اضافه و ۱ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ g سانتریفوژ گردید. کیفیت پلاسمید استخراج شده توسط ژل آگارز ۱ درصد و نانودراپ سنجیده شد. به منظور بررسی صحت همسانه‌سازی، پلاسمید استخراج شده جهت توالی‌یابی سانگر و تأیید حضور gRNA در ساختار پلاسمید ارسال شد.

ترانسفکشن سلول‌های HEK ۲۹۳ رده‌ی سلولی HEK ۲۹۳ از بانک سلولی شرکت بن‌یاخته با شماره دسترسی BN_0012.1.14 تهیه و در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS)، محلول پنی‌سیلین (۱۰۰ U/mL)، استرپتومایسین (۱۰۰ µg/mL) و L-2mM گلوتامین کشت داده شد. سپس در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با ۵ درصد CO₂ نگهداری و هر دو روز یک بار محیط کشت آن تعویض گردید و پس از ۳ پاساژ متوالی جهت ترانسفکشن مورد استفاده قرار گرفت. روز قبل از ترانسفکشن ۵×۱۰^۶ سلول در هر چاهک از پلیت ۶ خانه اضافه شد. ترانسفکشن با استفاده از ترکیب پلی‌اتیلن‌ایمین ۲۵ کیلوالتون (PEI) انجام شد. دو ساعت پیش از ترانسفکشن، محیط رویی سلول‌ها با محیط تازه حاوی ۲ درصد FBS تعویض گردید و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گرماگذاری شد. بر اساس دستورالعمل شرکت بن‌یاخته، ۱۰۰ میکرولیتر بافر BON1 به میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال داده شد و ۵ میکروگرم وکتور نوترکیب به آن اضافه و به خوبی ورتکس گردید. به میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری دیگری، ۶۷۲ میکرولیتر بافر BON2 و ۲۸ میکرولیتر محلول PEI اضافه گردید و به خوبی ورتکس شد. در ادامه ۱۰۰ میکرولیتر از محلول PEI به میکروتیوب حاوی وکتور اضافه شد و بلافاصله پس از افزودن PEI (سه بار، هر بار ۳ ثانیه) ورتکس گردید. مخلوط بدست آمده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد و در نهایت هر مخلوط DNA/PEI به یک چاهک از پلیت ۶ خانه اضافه گردید. پس از گذشت ۲۰ ساعت، تعویض محیط با محیط حاوی ۱۰ درصد FBS انجام شد و پس از گذشت ۴۸ ساعت شدت نور سبز ساطع شده (به دلیل بیان پروتئین GFP) با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت بررسی شد. درصد ترانسفکشن توسط فلوسایتومتری (مدل FACS calibur – آمریکا) تعیین شد.

ارزیابی عملکرد RNA راهنمای طراحی شده: به منظور ارزیابی کارایی عملکرد برش آنزیم Cas9 به واسطه‌ی هدایت RNA

کدکننده‌ی توالی هدف با استفاده از ابزار طراحی آنالین CRISPOR (<http://crispor.tefor.net/>) طراحی شد. به این منظور توالی مورد نظر در سایت ثبت شده و بر اساس جایگاه‌های برش هدف و غیرهدف gRNAهای پیشنهادی، همچنین فاصله‌ی جایگاه برش هر gRNA با ناحیه‌ی جهش مورد نظر، بهترین gRNA جهت سنتز انتخاب شد. همچنین توالی مربوط به ناحیه‌ی برش آنزیم محدودکننده‌ی BbsI، جهت همسانه‌سازی gRNA به درون وکتور pSpCas9(BB)-2A-GFP (PX۴۵۸) به دو انتهای gRNA طراحی شده اضافه گردید.

همسانه‌سازی RNAهای راهنما دو رشته‌ای به درون وکتور (PX۴۵۸): با استفاده از بافر اتصال شامل ۱، ۰، ۸ mM Tris-HCL، ۰۰ mM NaCl، ۱۰ mM EDTA، pH ۸ و آنتی‌سنس RNA راهنما به یکدیگر متصل، gRNA دورشته‌ای سنتز و با استفاده از آنزیم T4 ligase (فرمتاز-کانادا) به درون وکتور PX۴۵۸ الحاق و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۱۶°C در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد.

ترانسفورم وکتور نوترکیب جهت تکثیر: کشت شبانه‌ی باکتری *E. coli* سویه *stb13* در ۵ mL از محیط مایع (Lysogeny Broth) LB با گرماگذاری در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخش ۲۰۰ دور در دقیقه (rpm) انجام شد. مستعدسازی سلول‌های باکتریایی با استفاده از تیمار شیمیایی کلرید کلسیم (CaCl₂) ۰/۱ مولار و ترانسفورم سلول‌های مستعد به روش شوک حرارتی انجام گرفت. سوسپانسیون باکتریایی حاصل بر روی محیط کشت LB جامد حاوی آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین با غلظت ۱۰۰ µg/mL پخش شده و به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. کلون‌های رشد کرده توسط colony PCR بررسی گردید. به این منظور حداقل از ۱۰ کلون رشد کرده بر روی محیط واجد آنتی‌بیوتیک استخراج DNA انجام شد. جهت تأیید ورود قطعه‌ی کلون شده از پریمر مربوط به پروموتور وکتور PX۴۵۸ به عنوان پریمر رفت و توالی سنتز شده آنتی‌سنس gRNA کلون شده، به عنوان پریمر برگشت استفاده شد و واکنش PCR انجام شد. مشاهده‌ی باندهای ۱۴۳ جفت بازی بر روی ژل آگارز ۲ درصد نشان‌دهنده‌ی ورود موفقیت‌آمیز توالی gRNA به درون وکتور می‌باشد. پلاسمید نوترکیب R2PX۴۵۸ با استفاده از کیت استخراج پلاسمید شرکت کیاژن (Cat. NO. 04127) و طبق روش مندرج کیت جداسازی شد. بر این اساس، ۲ میلی‌لیتر محیط کشت مایع LB حاوی باکتری حامل وکتور نوترکیب پس از ۱۸ ساعت کشت شبانه به میکروتیوب منتقل گردید و به مدت ۵ دقیقه با دور ۸۰۰۰ g سانتریفوژ شد. بر روی رسوب حاصل محلول P1 اضافه و مجدد سوسپانسیون گردید. به مخلوط حاصل بافر P2 اضافه و به آرامی مخلوط و در نهایت بافر N3 به

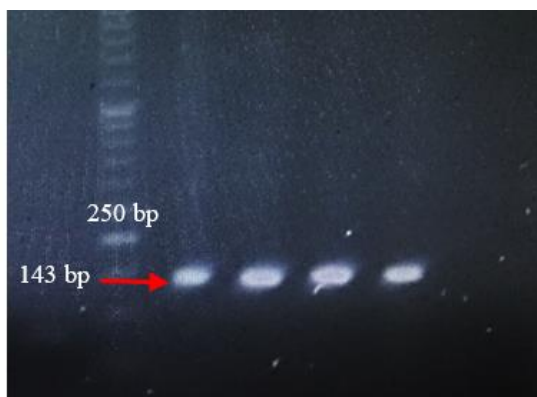
یکپارچه هر محصول برش خورده می‌باشد. توالی‌های تمام پرایمرهای مورد استفاده و gRNA ستنز شده در جدول ۱ فهرست شده‌اند.

$$100 \times (1 - (1 - (b + c) / (a + b + c))^{1/2})$$

این مقاله با کد اخلاق EE/1401.2.24.118699/scu.ac.ir در دانشگاه شهید چمران اهواز تصویب گردید.

یافته‌ها

بررسی صحت همسانه‌سازی: در این مرحله، ۴ کلونی از کلونی‌های رشد یافته انتخاب گردید و جهت تأیید ترانسفورم وکتور نو ترکیب colony PCR انجام شد. نتایج بدست آمده تأییدکننده‌ی حضور وکتور نو ترکیب در کلون‌های منتخب بود (شکل ۱). شکل ۲ نشان‌دهنده‌ی کیفیت وکتور استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد می‌باشد. تعیین توالی وکتور نو ترکیب با استفاده از آغازگر استاندارد وکتور Px458 تأییدکننده‌ی حضور توالی مورد نظر در وکتور نو ترکیب بود (شکل ۳).



شکل ۱. نتایج Colony PCR انجام گرفته بر روی کلون‌های منتخب حاوی وکتور نو ترکیب. PCR با استفاده از پرایمر F بر روی پروموتور U6 و پرایمر R (توالی آنتی‌سنس هر gRNA) انجام شد. M: مارکر با وزن مولکولی ۵۰ جفت باز بر روی ژل آگارز ۲ درصد

راهنمای طراحی شده، استخراج DNA از هر چاهک حاوی سلول‌های HEK ۲۹۳ ترانسفکت شده با استفاده از کیت استخراج DNA (Promega- آمریکا) انجام شد.

سنجش برش با استفاده از T7E1: محصول PCR بدست آمده از ناحیه‌ی ژنومی مورد نظر به طول ۷۷۸ جفت باز توسط کیت خالص‌سازی Qiaquick PCR (Qiagen, 2806) خالص‌سازی شد. به منظور تشکیل هترودوبلکس بین رشته‌ی برش خورده و رشته‌ی سالم، محصولات PCR خالص شده با استفاده از ترموسایکلر و برنامه‌ی ۹۵-درجه-۵ دقیقه، ۹۵-۸۵-درجه با کاهش دما ۲-درجه در ثانیه و ۲۵-۸۵-درجه با کاهش دما ۰/۱-درجه در ثانیه، در ابتدا دناتوره و سپس مجدد رناتوره گردید. به این ترتیب در صورت ایجاد جهش در توالی DNA هترودوبلکس‌ها تشکیل می‌گردند. محصولات PCR هیبرید شده توسط T7 اندونوکلاز I (NEB, M0302L) در بافر (NEB) NEBuffer 2 به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد هضم شدند و تحت الکتروفورز ژل آگارز ۲/۵ درصد قرار گرفتند.

سنجش برش با استفاده از سیستم PAGE: با استفاده از جفت پرایمرهای طراحی شده برای ناحیه‌ی ژنی مورد نظر، PCR جهت بدست آمدن محصولی به طول ۱۸۷ جفت باز انجام شد. قطعات برش خورده موجود در محصول PCR توسط ژل ۱۵ درصد پلی‌اکریل‌امید پس از ۴ ساعت و ۳۰ دقیقه با ولتاژ ۲۰۰ ولت از قطعات برش نخورده تفکیک شدند (۲۶). ژل پلی‌اکریل‌امید توسط نیترات نقره، رنگ‌آمیزی شد. به منظور رنگ‌آمیزی نیترات نقره در ابتدا محلول حاوی متانول و اسیداستیک بر روی ژل پلی‌اکریل‌امید ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه بر روی شیکر قرار داده شد. سپس محلول ۱۰ درصد نیترات نقره (شرکت سیگما-آلمان) بر روی ژل ریخته و مجدد به مدت ۱۰ دقیقه بر روی شیکر قرار داده شد. در پایان، ژل توسط محلول NaOH و فرم‌آلدهید به مدت ۴ دقیقه شستشو داده شد و بعد از ظاهر شدن باندها، ژل از محلول خارج گردید. درصد شکل‌گیری ایندل در هر دو تکنیک با استفاده از نرم‌افزار ImageJ و فرمول زیر تعیین و با یکدیگر مقایسه شد. a شدت یکپارچه محصول PCR هضم نشده و b و c شدت

جدول ۱. توالی‌های پرایمرها و gRNA طراحی شده

توالی 5'→3'	نام پرایمر
CACCGTCCCACCCTTAGGCTGCTGG	gRNA2- sense
AAACCCAGCAGCCTAAGGGTGGGAC	gRNA2- antisense
GCATGTGGAGACAGAGAAGAC	187F-HBB
CTTGCCATGAGCCTTCACCTT	187R-HBB
AACTCCTAAGCCAGTGCCAGAGA	778F-HBB
GCAATCATTCGTCTGTTTCCC	778R-HBB
GAATTTCGATGATGGAGGACGTCGGAATG	U6F
AAACCCAGCAGCCTAAGGGTGGGAC	R.gRNA2

توالی قرمز رنگ مربوط به توالی حاصل از برش آنزیم BbsI می‌باشد.

پلی‌اکریل‌آمید مشاهده شد. همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌گردد، حضور باندهای اضافه در زیر باند اصلی در ۴ کلون متفاوت، نشان‌دهنده‌ی برش آنزیم Cas9 در ناحیه‌ی مورد نظر می‌باشد.

بحث

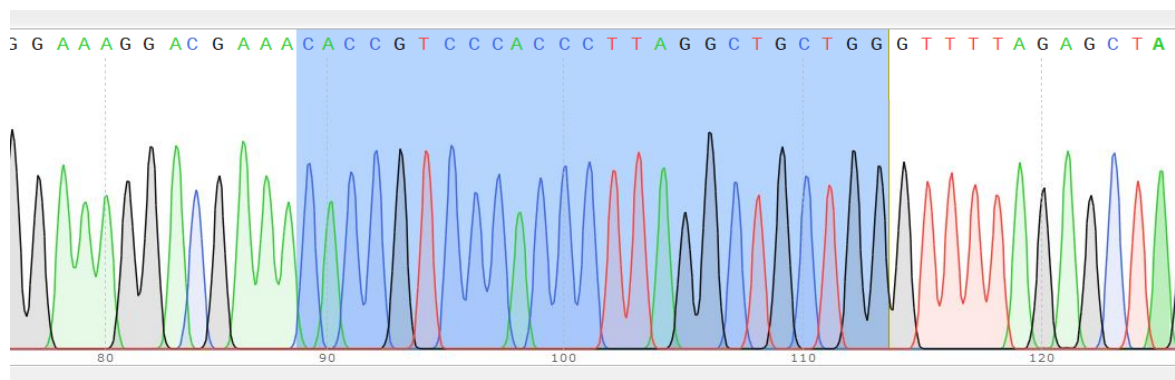
در این مطالعه به منظور بررسی کارایی برش آنزیم Cas9 در قالب سیستم CRISPR/Cas9، در ابتدا توالی RNA راهنما به صورت دو رشته‌ی سنس و آنتی‌سنس، جهت هدایت آنزیم Cas9 به جایگاه هدف برش بر روی آگزون ۲ ژن بتاگلوبین طراحی و پس از انجام فرایند اتصال دو رشته‌ی سنس و آنتی‌سنس به یکدیگر، به درون وکتور فرایند pSpCas9(BB)-2A-GFP (PX458) منتقل گردید. پس از تأیید کلونینگ قطعه‌ی مورد نظر، ترانسفورماسیون وکتور حامل RNA راهنما به درون سویه *Stb13* باکتری *اشرشیاکلی* با موفقیت انجام شد. پس از مشاهده‌ی کلون‌های باکتریایی و انجام تکنیک کلونی-PCR، کلون‌های مثبت حاوی وکتور نوترکیب جهت استخراج پلاسمید در محیط حاوی آنتی‌بیوتیک کشت داده شد و استخراج وکتور با غلظت بالا انجام گردید. رده‌ی سلولی HEK293T از رشد سلول‌های جنینی کلیه انسان در محیط کشت حاصل شده است. با توجه به رشد مناسب و قابلیت ترانسفیکاسیون مناسب، سلول‌های HEK293T به صورت گسترده در تحقیقات زیست‌شناسی سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۷). همچنین رده‌ی HEK293T، از محدود رده‌های سلولی بیان‌کننده ژن بتاگلوبین می‌باشد، به این ترتیب جهت ارزیابی عملکرد آنزیم Cas9 بر روی ژن گلوبین بسیار مناسب می‌باشد (۲۸). در ادامه وکتور نوترکیب حامل RNA راهنما و آنزیم Cas9، با استفاده از پلیمر پلی‌اتیلین ایمین (PEI) ۲۵ کیلودالتونی به رده‌ی سلولی HEK293T ترانسفکت گردید. گروه‌های آمین PEI می‌توانند در محیط اسیدی اندوزوم پروتونه شوند و DNA اندوسیتوز شده را از تجزیه توسط نوکلئازهای لیزوزومی حفاظت کنند (۲۹).



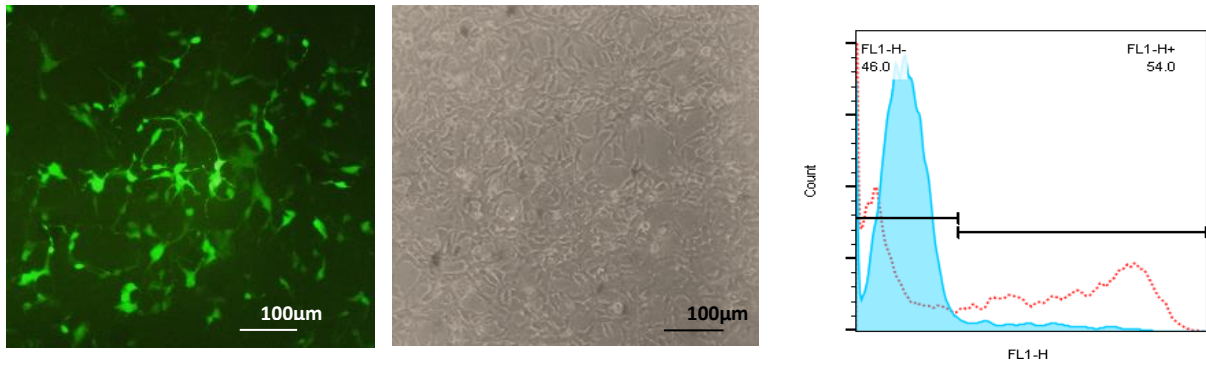
شکل ۲. الکتروفورز پلاسمید نوترکیب PX458 استخراج شده، چاهک (۱) پلاسمید R2.PX 458 غلظت ۳۶۰ نانوگرم در میکرولیتر. چاهک (۲) مارکر 1kb بر روی ژل آگارز ۱ درصد

تأیید انتقال پلاسمید نوترکیب به سلول‌های HEK293 ارزیابی سلول‌های GFP⁺ در جمعیت سلول‌های HEK293 ترانسفکت شده با وکتور گزارشگر GFP، ۴۸ ساعت پس از انتقال صورت پذیرفت. داده‌های دستگاه فلوسایتومترگویی جمعیت ۵۴ درصد از سلول‌های GFP⁺ در همراهی با تصویر میکروسکوپ فلورسنت نشان‌دهنده‌ی بیان موفق آنزیم cas9 در سلول‌های HEK293 بود (شکل ۴).

ارزیابی حساسیت روش PAGE و T7E1 دو واکنش PCR مختلف بر روی ژنوم جداسازی شده از ۱۰ کلون متفاوت از سلول‌های ترانسفکت شده انجام شد. در سنجش برش T7E1 باند مربوط به قطعه‌ی به طول ۷۷۸ جفت باز به همراه تک باند مشاهده شده در زیر باند اصلی در ۲ کلون سلولی مشاهده شد که نشان‌دهنده‌ی عملکرد آنزیم اندونوکلاز T7E1 در ناحیه‌ی هترو دوپلکس ایجاد شده در ژنوم می‌باشد (شکل ۵). در واکنش PCR دوم بر روی ژنوم ۱۰ کلون ترانسفکت شده، قطعه‌ی به طول ۱۷۸ جفت باز بر روی ژل



شکل ۳. نتیجه‌ی تعیین توالی وکتور نوترکیب حامل gRNA طراحی شده (R2.PX458)

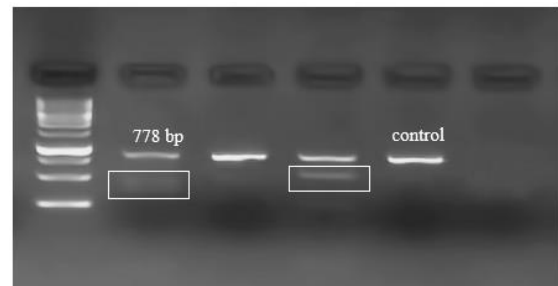


شکل ۴. تصویر میکروسکوپ فلورسنت و نوری سلول‌های HEK293T ترانسفکت شده با PEI به همراه هیستوگرام فلوسایتمتری جهت تعیین درصد ترانسفکت

grNA طراحی شده استفاده و میزان عملکرد آن‌ها در ارزیابی برش یا یکدیگر مقایسه گردید. دستیابی به کلون‌های ویرایش شده/ یا حامل جهش‌های جدید و سپس آنالیز ژنوم آن‌ها، از زمان برترین و پرهزینه‌ترین مراحل استفاده از تکنیک CRISPR-Cas9 در روش‌های ویرایش ژنوم و ژن درمانی می‌باشد (۳۰). روش مبتنی بر آنزیم نوکلئاز T7E1 به طور گسترده‌ای جهت ارزیابی نتایج برش ژنوم بر اساس ایجاد قطعات هترو دوپلکس DNA بر روی ژل آگارز، استفاده می‌گردد. هنگامی که قطعات تک رشته‌ای حاوی جهش‌های ایندل به قطعات DNA نوع وحشی متصل می‌شوند، هترو دوپلکس‌ها را تشکیل می‌دهند که متعاقباً در مکان‌های عدم تطابق توسط نوکلئاز T7 شکسته می‌شوند (۳۱).

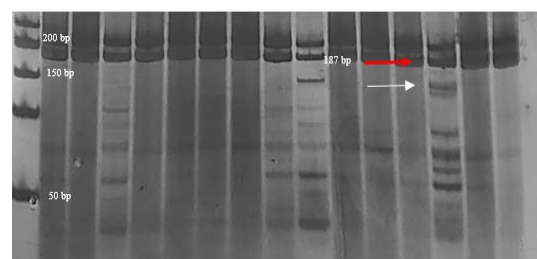
لازم به ذکر است که اگرچه روش سنجش T7E1 بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما تنها تخمین تقریبی از سطح تشکیل شکست‌های دورشته‌ای DNA را ارائه می‌دهد، T7E1 نسبت به ایندل‌های بزرگ حساسیت بالاتری دارد (می‌تواند مولکول‌های حاوی ایندل را که ۰/۵ درصد کل جمعیت مولکول‌های DNA را تشکیل می‌دهند، تشخیص دهد) اما برای شناسایی و برش ایندل‌های کوتاه، به ویژه جهش‌های تک نوکلئوتیدی کارایی بسیار کمتری دارد. اثربخشی T7E1 به شرایط انکوباسیون، نسبت DNA/آنزیم و سایر پارامترهای واکنش بستگی دارد که باید در هر مورد خاص بهینه‌سازی گردد (۳۲). نتایج هضم آنزیمی T7E1 در مطالعه‌ی حاضر، نشان‌دهنده‌ی عملکرد ۳۲ درصدی آنزیم Cas9 در برش ناحیه‌ی هدف بر روی ژن بتاگلوبین در رده‌ی سلولی HEK293T بود. در مطالعه‌ی مشابه، Lotfi و همکاران، کارایی برش آنزیم cas9 بر روی ژن بتاگلوبین در رده‌ی سلولی HEK293T را با استفاده از تکنیک T7E1 مورد بررسی قرار دادند و نتایج بدست آمده نشان‌دهنده‌ی عملکرد ۳۷/۵ درصد آنزیم Cas9 بود (۳۳).

به منظور تسهیل غربالگری، ما از سیستم PAGE غیردنا توره‌کننده به عنوان یک روش سریع و حساس برای شناسایی جهش‌یافته‌های



شکل ۵. نتایج T7E1 جهت ارزیابی عملکرد g2.PX458. کادر سفید رنگ نشان‌دهنده‌ی قطعات حاصل از تشکیل هترو دوپلکس می‌باشد و تأییدکننده‌ی بروز جهش ایندل در ناحیه‌ی ژنی مورد نظر است.

۷۲ ساعت پس از انتقال وکتور به سلول‌های HEK293T، کسب اطمینان از بیان ژن Cas9 با استفاده از آنالیز فلوسایتمتری، استخراج DNA ژنومی سلول‌های ترانسفکت شده، به منظور بررسی ژن بتاگلوبین در ناحیه‌ی هدف انجام شد.



شکل ۶. نتیجه‌ی ارزیابی برش آنزیم Cas9 بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۱۵ درصد. باندهای مشاهده شده مربوط به عملکرد grNA2 (۶۶ درصد). فلش قرمز رنگ نشان‌دهنده‌ی قطعه‌ی اصلی با طول ۱۸۷ جفت باز و فلش سفید رنگ نشان‌دهنده‌ی باند تولید شده در نتیجه برش آنزیم Cas9 می‌باشد. M. مارکر با وزن مولکولی ۵۰ bp

در مطالعه‌ی حاضر، از دو تکنیک غربالگری PAGE غیردنا توره‌کننده و هضم آنزیمی T7E1 جهت ارزیابی عملکرد برش

نتیجه‌گیری

در این مطالعه از سیستم ژل پلی‌اکریل ۱۵ درصد غیردنا توره‌کننده به منظور ارزیابی کارایی آنزیم Cas9 جهت ایجاد برش در ناحیه‌ی مشخصی از ژنوم استفاده شد و نتایج بدست آمده از این روش با نتایج بدست آمده از روش مرسوم ارزیابی عملکرد Cas9 (سنجش توسط آنزیم T7EI) مقایسه گردید. نتیجه‌ی بدست آمده نشان‌دهنده‌ی قدرت تفکیک بالای این سیستم جهت شناسایی قطعات برش خورده در یک جمعیت ناهمگن سلولی می‌باشد. از دیگر مزایای اصلی استفاده از تکنیک PAGE غیردنا توره‌کننده در مقایسه با سایر روش‌ها، می‌توان به کوتاه بودن مدت زمان اجرا و هزینه‌ی انجام آزمایش اشاره داشت. این روش امکان ارائه‌ی اطلاعات مهم و مختلفی از جهش‌های ایجاد شده را در یک آزمایش فراهم می‌کند. استفاده از PCR و PAGE نشان می‌دهد که آیا سلول‌های مورد بررسی دچار برش در ناحیه‌ی هدف شده‌اند یا خیر. همچنین نوع نسبی جهش‌های موجود (درج در مقابل حذف) و تعداد انواع جهش‌ها را به واسطه‌ی حساسیت بالا در نشان دادن قطعات پلی‌نوکلئوتیدی با طول کوتاه را نشان داده و قطعاتی با تفاوت نوکلئوتیدی بسیار کم را از یکدیگر تمیز می‌دهد. در نتیجه، این روش یک پروتکل ساده، سریع، کم هزینه و قابل اجرا در هر آزمایشگاه تحقیقاتی، برای تشخیص جهش‌های ایندل در پروسه‌های ویرایش ژنی و جهش‌زایی را فراهم می‌سازد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع دکتری رشته‌ی ژنتیک با کد ۱۱۸۶۹۹ می‌باشد که در دانشگاه شهید چمران اهواز تصویب گردید و با حمایت مالی دانشگاه به انجام رسیده است.

CRISPR-Cas9 استفاده کردیم. پیش از این در مطالعات مختلفی از سیستم PAGE دنا توره‌کننده برای شناسایی جهش‌های ناشی از CRISPRCas9 در گورخرماهی، موش و سلول‌های انسانی استفاده شد. با این حال، این سنجش نیاز به تشکیل هتروودوپلکس قبل از انجام PAGE داشت (۲۰، ۳۴). در این مطالعه پیشنهاد شد می‌توان مستقیماً محصولات PCR ناشی از عملکرد آنزیم cas9 را از طریق سیستم PAGE کلاسیک و فقط بر اساس تفاوت اندازه در طول آمپلیکون مورد بررسی قرار داد و نیازی به تشکیل و تشخیص هتروودوپلکس‌ها یا برش آنزیمی در نقاط عدم تطابق DNA در نمونه‌های مورد آزمایش نمی‌باشد. تشخیص تغییرات کوچک در طول DNA مورد بررسی، به یک ژل پلی‌اکریل آمید با درصد بالا نیاز دارد. به این ترتیب از ژل پلی‌اکریل آمید ۱۵ درصد برای به دست آوردن قدرت تفکیک کافی در آمپلیکون‌های ۲۵-۱۵۰ جفت باز استفاده شد و نتایج آن نشان‌دهنده‌ی عملکرد ۶۶ درصدی آنزیم Cas9 در شناسایی و برش ناحیه‌ی هدف بود. به این ترتیب یک روش غربالگری کارآمد تک مرحله‌ای و ارزان قیمت را برای ژنوتیپ کردن جهش‌های ایندل ایجاد شده با استفاده از سیستم CRISPR/Cas9 در رده‌ی سلول‌های انسانی ارائه نمودیم. نتایج بدست آمده بیانگر قدرت تفکیک دو برابر و وضوح بالای سیستم PAGE برای تشخیص تغییرات کوچک به اندازه‌ی ۵-۱۰ جفت باز در طول اسید نوکلئیک در محل مورد نظر با حساسیت و همچنین کارایی بالا می‌باشد. این نتایج با مطالعه‌ی Zhu و همکاران مطابقت داشت. با این تفاوت که آن‌ها از تکنیک PAGE دنا توره‌کننده بر پایه‌ی تشکیل هتروودوپلکس استفاده کرده و نشان دادند که این تکنیک به خوبی قادر به ژنوتیپ کردن و شناسایی جهش‌های ناشی از CRISPR-Cas9 در رده‌های مختلف سلولی می‌باشد (۳۴).

References

1. Yang H, Ren S, Yu S, Pan H, Li T, Ge S, et al. Methods favoring homology-directed repair choice in response to CRISPR/Cas9 induced-double strand breaks. *Int J Mol Sci* 2020; 21(18): 6461.
2. Cox DBT, Platt RJ, Zhang F. Therapeutic genome editing: Prospects and challenges. *Nat Med* 2015; 21(2): 121-31.
3. Kim H, Kim JS. A guide to genome engineering with programmable nucleases. *Nat Rev Genet* 2014; 15(5): 321-34.
4. Gupta D, Bhattacharjee O, Mandal D, Sen MK, Dey D, Dasgupta A, et al. CRISPR-Cas9 system: A new-fangled dawn in gene editing. *Life Sci* 2019; 232: 116636.
5. Finotti A, Breda L, Lederer CW, Bianchi N, Zuccato C, Kleanthous M, et al. Recent trends in the gene therapy of β -thalassemia. *J Blood Med* 2015; 6: 69-85.
6. Asmamaw M, Zawdie B. Mechanism and applications of CRISPR/Cas-9-Mediated genome editing. *Biologics* 2021; 15: 353-61.
7. Sander JD, Joung JK. CRISPR-Cas systems for genome editing, regulation and targeting. *Nat Biotechnol* 2014; 32(4): 347-55.
8. Silva G, Poirot L, Galetto R, Smith J, Montoya G, Duchateau P, et al. Meganucleases and other tools for targeted genome engineering: Perspectives and challenges for gene therapy. *Curr Gene Ther* 2011; 11(1): 11-27.
9. Cho SW, Kim S, Kim Y, Kweon J, Kim HS, Bae S, et al. Analysis of off-target effects of CRISPR/Cas-derived RNA-guided endonucleases and nickases. *Genome Res* 2014; 24(1): 132-41.
10. Mali P, Yang L, Esvelt KM, Aach J, Guell M, DiCarlo JE, et al. RNA-guided human genome engineering via

- Cas9. *Science* 2013; 339(6121): 823-6.
11. Jiang F, Doudna JA. CRISPR-Cas9 structures and mechanisms. *Annu Rev Biophys* 2017; 46: 505-29.
 12. Jinek M, East A, Cheng A, Lin S, Ma E, Doudna J. RNA-programmed genome editing in human cells. *Elife* 2013; 2: e00471.
 13. Cong L, Ran FA, Cox D, Lin S, Barretto R, Habib N, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science* 2013; 339(6121): 819-23.
 14. Cho S, Kim S, Kim JM, Kim J. Targeted genome engineering in human cells with the Cas9 RNA-guided endonuclease. *Nat Biotechnol* 2013; 31(3): 230-2.
 15. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 2012; 337(6096): 816-21.
 16. Xue C, Greene EC. DNA repair pathway choices in CRISPR-Cas9-Mediated genome editing. *Trends Genet* 2021; 37(7): 639-56.
 17. Ceccaldi R, Rondinelli B, D'Andrea AD. Repair pathway choices and consequences at the double-strand break. *Trends Cell Biol* 2016; 26(1): 52-64.
 18. Bravo JP, Liu MS, Hibshman GN, Dangerfield TL, Jung K, McCool RS, et al. Structural basis for mismatch surveillance by CRISPR-Cas9. *Nature* 2022; 603(7900): 343-7.
 19. Burger A, Lindsay H, Felker A, Hess C, Anders C, Chiavacci E, et al. Maximizing mutagenesis with solubilized CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein complexes. *Development* 2016; 143(11): 2025-37.
 20. Ota S, Hisano Y, Muraki M, Hoshijima K, Dahlem TJ, Grunwald DJ, et al. Efficient identification of TALEN-mediated genome modifications using heteroduplex mobility assays. *Genes Cells* 2013; 18(6): 450-8.
 21. Zhou J, Shen B, Zhang W, Wang J, Yang J, Chen L, et al. One-step generation of different immunodeficient mice with multiple gene modifications by CRISPR/Cas9 mediated genome engineering. *Int J Biochem Cell Biol* 2014; 46: 49-55.
 22. Wijshake T, Baker DJ, van de Sluis B. Endonucleases: new tools to edit the mouse genome. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1842(10): 1942-50.
 23. Dahlem TJ, Hoshijima K, Jurynek MJ, Gunther D, Starker CG, Locke AS, et al. Simple methods for generating and detecting locus-specific mutations induced with TALENs in the zebrafish genome. *PLoS Genet* 2012; 8(8): e1002861.
 24. D'Agostino Y, Locascio A, Ristatore F, Sordino P, Spagnuolo A, Borra M, et al. A rapid and cheap methodology for CRISPR/Cas9 zebrafish mutant screening. *Mol Biotechnol* 2016; 58(1): 73-8.
 25. Zhang JP, Li XL, Neises A, Chen W, Hu LP, Ji GZ, et al. Different effects of sgRNA length on CRISPR-mediated gene knockout efficiency. *Sci Rep* 2016; 6: 28566.
 26. Chandrasekaran AR, Halvorsen K. Nuclease degradation analysis of DNA nanostructures using gel electrophoresis. *Curr Protoc Nucleic Acid Chem* 2020; 82(1): e115.
 27. Pulix M, Lukashchuk V, Smith DC, Dickson AJ. Molecular characterization of HEK293 cells as emerging versatile cell factories. *Curr Opin Biotechnol* 2021; 71: 18-24.
 28. Kalkan BM, Kala EY, Yuce M, Alpaslan MK, Kocabas F. Development of gene editing strategies for human β -globin (HBB) gene mutations. *Gene* 2020; 734: 144398.
 29. González-Domínguez I, Grimaldi N, Cervera L, Ventosa N, Gòdia F. Impact of physicochemical properties of DNA/PEI complexes on transient transfection of mammalian cells. *N Biotechnol* 2019; 49: 88-97.
 30. Haeussler M, Schönig K, Eckert H, Eschstruth A, Mianné J, Renaud JB, et al. Evaluation of off-target and on-target scoring algorithms and integration into the guide RNA selection tool CRISPOR. *Genome Biol* 2016; 17(1): 148.
 31. Vouillot L, Thélie A, Pollet N. Comparison of T7E1 and surveyor mismatch cleavage assays to detect mutations triggered by engineered nucleases. *G3 (Bethesda)* 2015; 5(3): 407-15.
 32. Lomov NA, Viushkov VS, Petrenko AP, Syrkina MS, Rubtsov MA. Methods of evaluating the efficiency of CRISPR/Cas genome editing. *Mol Biol (Mosk)* 2019; 53(6): 982-97.
 33. Lotfi M, Ashouri A, Mojarrad M, Mozaffari-Jovin S, Abbaszadegan MR. Design principles of a novel construct for HBB gene-editing and investigation of its gene-targeting efficiency in HEK293 cells. *Mol Biotechnol* 2023; 1-14.
 34. Zhu X, Xu Y, Yu S, Lu L, Ding M, Cheng J, et al. An efficient genotyping method for genome-modified animals and human cells generated with CRISPR/Cas9 system. *Sci Rep* 2014; 4: 6420.

A Comparison of the Efficiency of the T7-Endonuclease I Enzyme and Polyacrylamide Gel Electrophoresis System in Evaluating the Cleavage Efficiency of the CRISPR/Cas9 System

Nasim Mayeli Fereydani¹, Hamid Galehdari², Elham Hoveizi³, Monireh Ajami⁴

Original Article

Abstract

Background: Assessment of Cas9 cleavage in CRISPR (Clustered Regularly Interspersed Short Palindromic Repeat) system and screening of mutations is one of the challenges of this system. This study suggests a high-efficiency PCR-based method using non-denaturing PAGE that does not depend on the formation of heteroduplexes.

Methods: In this study, to investigate the CRISPR-Cas9 function, first, a proper guide RNA sequence with the target sequence was designed and synthesized. The BbsI digested pSpCas9(BB)-2A-GFP (PX458) vector and the guide RNA were cloned into the cleavage site. The recombinant plasmid was extracted, and after confirming the correctness of cloning using the sequencing technique, it was transfected into the HEK293T cell line. After confirming and determining the transfected percentage by flow cytometry, the genomic DNA of the cells carrying the recombinant vector was extracted. Two different PCR reactions were performed to check the function of the Cas9 enzyme in the desired region on the Beta-globin gene, and the cutting percentage was evaluated.

Findings: The enzymatic digestion of T7EI on the genome showed 32%, and the polyacrylamide gel electrophoresis system results showed a 66% function of the Cas9 enzyme. In this way, the PAGE system reliably detects changes as small as 5-10 base pairs in the length of the nucleic acid at the desired location.

Conclusion: The PAGE-based technique can replace the T7EI assay as a routine laboratory protocol for genotyping human cell lines produced by the CRISPR/Cas9 system.

Keywords: Polyacrylamide gel electrophoresis; T7-Endonuclease I enzyme; CRISPR-Cas; Indel mutation

Citation: Mayeli Fereydani N, Galehdari H, Hoveizi E, Ajami M. A Comparison of the Efficiency of the T7-Endonuclease I Enzyme and Polyacrylamide Gel Electrophoresis System in Evaluating the Cleavage Efficiency of the CRISPR/Cas9 System. J Isfahan Med Sch 2023; 41(740): 929-37.

1- PhD Candidate, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3- Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

4- Assistant Professor, Department of Hematology, School of Paramedical Sciences, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Hamid Galehdari, Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; Email: galehdari187@yahoo.com

مقایسه‌ی اثر کافئین و دوکسپیرام بر پارامترهای تنفسی و همودینامیک بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه پس از عمل جراحی ستون فقرات

بابک علی کیایی^۱، سید تقی هاشمی^۲، محمدحسن هوشمند^۳، علی مهربانی کوشکی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی اثر کافئین و دوکسپیرام بر پارامترهای تنفسی و همودینامیک بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه پس از عمل جراحی ستون فقرات به انجام رسید.

روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر از نوع کارآزمایی بالینی آینده‌نگر بود که در بیمارستان فوق تخصصی الزهرا(س) اصفهان بر روی بیماران کاندید جراحی ستون فقرات انجام شده است. ۹۰ بیمار کاندید جراحی ستون فقرات، با استفاده از روش تصادفی سازی بلوکی به سه گروه ۳۰ نفری دوکسپیرام، کافئین و دارونما تخصیص یافتند. متغیرهای همودینامیک، تعداد آپنه، مدت زمان آپنه و فاصله‌ی زمانی بین عود آپنه هر ۶ ساعت تا ۴۸ ساعت پس از جراحی پایش و ثبت شد.

یافته‌ها: میانگین درصد اشباع اکسیژن، فشارخون دیاستولی و تعداد ضربان قلب، بین سه گروه اختلاف معنی‌داری نشان نداد. اما فشارخون سیستولی به طور معنی‌داری در گروه شاهد بالاتر بود. میانگین تعداد آپنه در بیماران و همچنین میانگین مدت زمان آپنه در گروه دوکسپیرام، کمتر ارزیابی شد. در همین راستا فاصله‌ی زمانی بین عود آپنه در گروه دوکسپیرام بیشتر از دو گروه درمانی دیگر مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: دوکسپیرام، عملکرد قوی‌تری نسبت به کافئین در کاهش پارامترهای مدت زمان آپنه و تعداد آن ایجاد نمود؛ همچنین توانست فاصله‌ی زمانی بین آن را بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: سرکوب تنفسی؛ محرک تنفسی؛ کافئین؛ دوکسپیرام

ارجاع: علی کیایی بابک، هاشمی سید تقی، هوشمند محمدحسن، مهربانی کوشکی علی. مقایسه‌ی اثر کافئین و دوکسپیرام بر پارامترهای تنفسی و همودینامیک بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه پس از عمل جراحی ستون فقرات. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۴۰): ۹۴۵-۹۳۸

مقدمه

سرکوب تنفسی، یکی از عوارض شایع که می‌تواند بعد از اکتوباسیون رخ دهد که در بسیاری از مواقع این سرکوب ناشی از تجویز داروهای سداتیو شل‌کننده‌های عضلانی و یا کاهنده‌ی درد می‌باشد، با وجود در دسترس بودن ضد دردها و سداتیوهای غیر اپیوئیدی متعدد، اپیوئیدها شایع‌ترین داروهای مورد استفاده به عنوان ضد درد پس از جراحی می‌باشند که سرکوب تنفسی از عوارض مهم این دسته داروها می‌باشد (۱-۳). شیوع آپنه پس از جراحی که دارای اهمیت

بالینی بوده و نیاز به مداخله دارد، در بیمارانی که اپیوئید، به‌عنوان سداتیو دریافت کردند در حد دو درصد بود (۲، ۴) و بروز اختلالات تنفسی پس از جراحی ۱۲ درصد گزارش شده است (۳). شیوع عوارض تنفسی پس از جراحی در سالمندان حدود ۴۰ درصد برآورد گردیده است (۴).

آپنه‌ی خواب عبارتست از وقفه‌ی تنفس بیش از ۱۰ ثانیه ضمن خواب، سه نوع آپنه تقسیم‌بندی شده است. آپنه می‌تواند انسدادی باشد یعنی در اثر انسداد در راه‌های هوایی فوقانی به وجود آید،

۱- دانشیار، گروه بیهوشی، مرکز تحقیقات بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دستیار بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- کارشناس ارشد اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤو: علی مهربانی کوشکی؛ کارشناس ارشد اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

IRCT20200825048515N51 در مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران تأیید شده و در بیمارستان فوق تخصصی الزهرا(س) اصفهان بر روی بیماران کاندید جراحی ستون فقرات انجام گردیده است.

معیارهای ورود به مطالعه شامل دامنه‌ی سنی ۱۸ تا ۵۰ سال، ASA 1، بیماران تحت جراحی ستون فقرات و موافقت بیمار برای شرکت در مطالعه بود. معیار خروج شامل عدم اکستوباسیون در ICU، فوت بیمار در ۴۸ ساعت اولیه بود. حساسیت به دوکسپرام و هموگلوبین کمتر از ۹ mg/dl به عنوان معیارهای خروج از مطالعه در نظر گرفته شد.

پس از اخذ کد اخلاق و جلب همکاری مدیریت بیمارستان الزهرا(س)، ۹۰ بیمار کاندید جراحی ستون فقرات، در سطح اطمینان ۹۵ درصد و توان ۸۰ درصد، با رعایت معیارهای ورود و خروج انتخاب شدند و با استفاده از بلوک‌های ۹ تا ۱۰ جهت میج کردن نمره‌ی آپاچی، به طور تصادفی به سه گروه ۳۰ نفری دوکسپرام، کافئین و دارونما تخصیص یافتند. با توجه به اینکه در مطالعات قبلی تأثیر کافئین و دوکسپرام به تنهایی بر روی پارامترهای تنفسی اثبات شده است، به آن دلیل از دارونما استفاده شد تا اثرات همودینامیکی دو دارو بصورت کنترل شده و حفظ مخدوشگرها بررسی گردد. سپس محقق اقدام به توجیه و آموزش بیماران در مورد فرایند و فواید مطالعه و کسب رضایت آگاهانه‌ی کتبی از بیماران نموده و اطلاعات دموگرافیک بیماران شامل قد و وزن و جنسیت آن‌ها را ثبت نمود. قابل ذکر است به منظور جلوگیری از مخدوش شدن نتایج، بیماران سه گروه از نظر توزیع سنی و جنسی همسان‌سازی شدند.

روش کورسازی بدین صورت بود که بیماران و فرد جمع‌آوری کننده‌ی داده‌ها از نوع داروی تجویزی بی‌اطلاع بودند. تصادفی‌سازی بیماران بین سه گروه نیز با استفاده از نرم‌افزار تخصیص تصادفی (RAS) انجام گرفت.

روش مداخله در این کارآزمایی بالینی به این صورت بود که، در طی نیم ساعت اول ورود بیماران به بخش مراقبت‌های ویژه سیستم تنفسی آن‌ها با اندازه‌گیری و ثبت تعداد تنفس در دقیقه، تعداد حملات آپنه، اندازه‌گیری مدت زمان بین حمله‌ها و اندازه‌گیری سچوریشن اکسیژن به وسیله‌ی پالس اکسی متر ثبت شد. لازم به ذکر است که در بدو ورود امتیاز APACHE2 بیماران هر سه گروه، به منظور همسان‌سازی وضعیت عمومی و وخامت حال بیماران اندازه‌گیری و ثبت گردید. سپس پس از حداکثر سه ساعت انفوزیون داروها در سه گروه درمانی به ترتیب دوکسپرام ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۳)، کافئین سیترات ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۱۳) و ۲۵۰ سی‌سی نرمال سالین به‌عنوان دارونما شروع شد. هر ۶ ساعت و طی ۴۸ ساعت پارامترهای تنفسی از جمله

می‌تواند مرکزی بوده یعنی به علت مشکلات مغزی ایجاد شود و همچنین می‌تواند مختلط باشد. شیوع آپنه در کل جمعیت حدود ۵ درصد است. علت اصلی آپنه‌ی انسدادی این است که بافت‌های اطراف گلو در ضمن خواب شل شده و روی هم می‌افتند و باعث انسداد می‌شوند. در افرادی که این مشکل را دارند، این انسداد در فشار متفاوتی نسبت به افراد نرمال اتفاق می‌افتد. یعنی سریع‌تر دچار انسداد می‌گردند. آپنه‌ی انسدادی بیشتر در افراد چاق و میانسال دیده می‌شود ولی در هر سنی می‌توان این مشکل را دید. همچنین در بچه‌هایی که لوزه بزرگ دارند نیز آپنه‌ی انسدادی زیاد دیده می‌شود (۵).

در برخی موارد ممکن است برای رفع سرکوب تنفسی از آنتاگونیست‌های داروهای سداتیو استفاده شود، با وجود بهبود فعالیت تنفسی، باعث از بین رفتن اثر ضد درد شده و کنترل درد بیماران را مختل می‌کند و در صورت وجود یک محرک تنفسی مناسب برای آپنه پس از جراحی، علاوه بر کاهش مورتالیتی و موربیدیتی، کنترل درد بیماران نیز بهبود پیدا می‌کند (۶-۸). از این رو، مصرف داروهای محرک سیستم تنفسی، مانند کافئین و دوکسپرام، به عنوان پیشگیری و همچنین درمان آپنه و سرکوب تنفسی پس از جراحی در حال افزایش است (۹).

کافئین، یک محرک خفیف سیستم عصبی مرکزی است که اثر خود را با تأثیر بر رسپتورهای آدنوزینی و در نتیجه افزایش فعالیت دوپامین انرژیک اعمال می‌کند (۱۰). تأثیرات کافئین بر آپنه پس از جراحی در بزرگسالان هنوز به طور کامل بررسی نشده است و محدود مطالعاتی، تجویز کافئین را باعث بهبود (Richmod agitation dedatane score) RASS Score دانسته، اگرچه تأثیر چندانی بر تعداد تنفس و سچوریشن اکسی هموگلوبین نشان نداده است (۱۱).

دوکسپرام، حدود چهار سال به عنوان یک داروی آنالژتیک و سپس محرک سیستم تنفسی استفاده می‌شده، اما به دلیل عوارض جانبی مانند هایپرتنشن و دیس‌پنه، کاهش یافته است (۱۲). دوکسپرام، در آپنه‌های پس از جراحی، آپنه‌های ناشی از سرکوب تنفسی و در بیماری‌های ریوی، استفاده می‌شود (۱۲، ۱۳). به دلیل شیوع بالا و همچنین اهمیت سرکوب و تنفسی و آپنه پس از جراحی و همچنین نبودن مطالعه مبنی بر مقایسه‌ی دقیق اثر پیشگیرنده و درمانی این دارو بر آپنه پس از جراحی، در این بررسی به مقایسه‌ی اثر کافئین و دوکسپرام در درمان آپنه پس از جراحی پرداخته شده است.

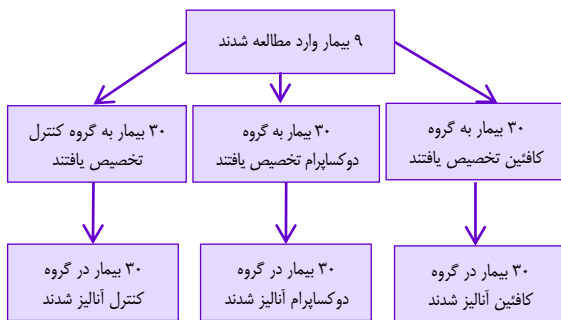
روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع کارآزمایی بالینی شاهد دار تصادفی شده دو سوکور بوده که با کد IR.MUI.MED.REC.1398.514 در کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و کد

تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

تعداد ۹۰ بیمار کاندید جراحی ستون فقرات از ابتدا تا انتهای مطالعه، در پژوهش حضور داشتند. نمودار چینش و ریزش بیماران در شکل ۱ مندرج است.



شکل ۱. نمودار کانسورت بیماران

نتایج نشان داد، بیماران از نظر سن ($P = ۰/۳۲$)، وزن ($P = ۰/۹۲$)، نمره‌ی آپاچی ($P = ۰/۰۹$)، جنسیت ($P = ۰/۷۶$) و ASA ($P = ۰/۵۹$) اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۱). جدول ۲، میانگین و انحراف معیار پارامترهای همودینامیک بیماران را از ۶ ساعت تا ۴۸ ساعت بعد عمل نشان می‌دهد. برابر جدول ۲، میانگین فشارخون سیستول و دیاستول در ۴۸ ساعت بعد عمل، بین سه گروه شاهد، کافئین و دوکسپرام، اختلاف معنی‌دار داشت ولی در بقیه‌ی زمان‌ها تفاوت سه گروه معنی‌دار نبود. در بررسی درون‌گروهی، تغییرات فشارخون سیستول در درون هر سه گروه، دیاستول در گروه دوکسپرام و ضربان قلب در هر سه گروه معنی‌دار بود. در بررسی بین‌گروهی، روند تغییرات فشارخون سیستولی بین سه گروه اختلاف معنی‌دار داشت.

تعداد و مدت اپیزودهای آپنه بررسی شد. همچنین در طی ۴۸ ساعت بعد از آن، هر ۶ ساعت شاخص‌های حیاتی بیمار و اندکس‌های همودینامیک شامل: فشارخون سیستولی، فشارخون دیاستولی، متوسط فشارخون شریانی، درصد اشباع اکسیژن، تعداد ضربان و تنفس در دقیقه، نمره‌ی مقیاس کوما‌ی گلاسکو و تعداد اپیزودهای آپنه ثبت شد. قابل ذکر است انتخاب مقاطع زمانی ۶ ساعته بر مبنای مدت ماندگاری دوکسپرام در بدن انتخاب گردید.

برای بررسی شدت آپنه از معیار AHI استفاده شد. شاخص آپنه-هیپوپنه (AHI) نشان دهنده‌ی میانگین تعداد آپنه‌ها و هیپوپنه‌هایی است که در هر ساعت در طول خواب تجربه می‌کنید. برای اندازه‌گیری آن، پزشکان تعداد کل رویدادهای آپنه و هیپوپنیک را بر تعداد کل ساعات خواب شما تقسیم می‌کنند. برای ثبت نام به عنوان یک رویداد، آپنه یا هیپوپنه باید حداقل ۱۰ ثانیه یا بیشتر طول بکشد (۱۴).

سیستم طبقه‌بندی شدت بیماری‌ها (APACHI II) با دوازده مشخصه فیزیولوژیک که غالب سیستم‌های فیزیولوژیک را شامل می‌شوند تعریف می‌شود. این سیستم به علت سادگی در جمع‌آوری اطلاعات از طریق آزمایشات و معاینات روتین و قابل تکثیر بودن آن‌ها هنوز مورد استفاده‌ترین سیستم در بخش‌های درمانی برای پیش‌بینی روند درمان بیماران بستری به خصوص در بخش می‌باشد. طبق جدول استاندارد آپاچی ۲، اگر نمره‌ی بیمار به ترتیب ۱۵-۰، ۱۹-۱۶، ۳۰-۲۰ و بالاتر از ۳۰ باشد، احتمال مرگ و میر برای وی به ترتیب ۱۰، ۱۵، ۳۵ و ۷۵ درصد می‌باشد (۱۵).

اطلاعات پس از جمع‌آوری توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ (version 23, IBM Corporation, Armonk, NY) و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه، آنالیز واریانس با داده‌های تکراری (با هدف مقایسه‌ی روند تغییرات متغیرها در طی زمان و کنترل اثر مخلوش کننده‌ها) و Chi-Square، در سطح خطای ۵ درصد، مورد

جدول ۱. مشخصات دموگرافیک نمونه‌ها به تفکیک گروه درمانی

P	دوکسپرام	کافئین	شاهد	پارامتر مورد بررسی
۰/۳۲*	۴۰/۱۳ ± ۱۰/۴۱	۴۳/۷۵ ± ۱۸/۲۸	۴۶/۰۳ ± ۱۷/۲۴	سن (سال)
۰/۹۲*	۷۴/۲۵ ± ۱۱/۹۲	۷۳/۵۶ ± ۵/۷۸	۷۴/۴۵ ± ۱۸/۲۸	وزن (کیلوگرم)
۰/۰۹*	۲۹/۲۵ ± ۴/۷۵	۲۷/۱۴ ± ۴/۲۸	۲۹/۵۰ ± ۴/۲۵	آپاچی ۲
۰/۷۶**	۲۳ (۷۶)	۲۳ (۷۶)	۲۵ (۸۳)	جنسیت
	۷ (۲۴)	۷ (۲۴)	۵ (۱۷)	مرد
۰/۵۹	۲۴ (۸۰)	۲۳ (۷۶/۶)	۲۱ (۷۰)	ASA
	۶ (۲۰)	۷ (۲۳/۳)	۹ (۳۰)	۲

*: One way ANOVA; **: Chi-Square

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار پارامترهای همودینامیک به تفکیک گروه درمانی و زمان

P*	گروه			زمان	متغیر
	دوکسپرام	کافئین	شاهد		
۰/۱۱	۸۸/۳ ± ۸/۲	۹۲/۲ ± ۶/۲	۹۰/۳ ± ۶/۵	۶	Spo2
۰/۵۳	۸۹/۱ ± ۷/۷	۹۱ ± ۶/۷	۸۹/۲ ± ۸/۲	۱۲	
۰/۷۳	۸۹/۸ ± ۷/۱	۹۰/۸ ± ۷/۷	۸۹/۳ ± ۷/۷	۱۸	
۰/۴۱	۸۸/۸ ± ۶	۸۹/۲ ± ۵	۸۷/۳ ± ۵/۸	۲۴	
۰/۲۶	۸۸/۲ ± ۶/۲	۸۵/۷ ± ۷/۲	۷۸/۶ ± ۷/۳	۳۰	
۰/۳۲	۸۸/۸ ± ۵/۵	۸۸/۲ ± ۵/۳	۸۶/۷ ± ۵/۹	۳۶	
۰/۲۰	۸۹/۹ ± ۴/۵	۸۹ ± ۵	۸۷/۷ ± ۵	۴۲	
۰/۰۱	۹۱/۷ ± ۶/۵	۸۹/۲ ± ۴	۸۷/۷ ± ۴/۹	۴۸	
۰/۲۷***	۰/۴۱	۰/۰۸	۰/۱۲	P**	
۰/۱۷	۱۱۸/۱ ± ۱۱/۱	۱۲۰/۱ ± ۱۱/۴	۱۲۵ ± ۱۷/۵	۶	
۰/۱	۱۱۶/۲ ± ۱۱	۱۱۹/۷ ± ۱۳/۲	۱۲۴/۲ ± ۱۸	۱۲	
۰/۳۴	۱۱۵/۷ ± ۹/۸	۱۱۶/۶ ± ۱۲/۲	۱۲۰/۲ ± ۱۵	۱۸	
۰/۴۵	۱۱۵/۷ ± ۹/۸	۱۱۹/۵ ± ۱۰/۵	۱۱۸/۳ ± ۱۵	۲۴	
۰/۴۲	۱۱۶/۹ ± ۶/۹	۱۱۷/۹ ± ۴/۵	۱۲۰ ± ۱۲/۵	۳۰	
۰/۲۰	۱۱۸/۲ ± ۶/۵	۱۱۶/۱ ± ۷/۳	۱۲۱/۷ ± ۱۸/۲	۳۶	
۰/۴۷	۱۱۸/۳ ± ۶/۶	۱۱۵/۸ ± ۱۱/۶	۱۱۸/۹ ± ۱۱/۲	۴۲	
۰/۰۱	۱۰۹/۴ ± ۷/۴	۱۱۲/۱ ± ۸/۹	۱۱۷/۱ ± ۱۲/۲	۴۸	
۰/۰۴***	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	P**	
۰/۰۵	۷۱/۳ ± ۱۱/۳	۷۲/۱ ± ۸/۹	۷۸/۴ ± ۱۲/۱	۶	فشار خون دیاستولی
۰/۶۶	۷۱/۷ ± ۸/۱	۷۳/۲ ± ۸/۹	۷۴ ± ۱۲/۴	۱۲	
۰/۳۱	۷۳/۲ ± ۶/۹	۷۵ ± ۶/۹	۷۵/۶ ± ۷	۱۸	
۰/۵۶	۷۶/۸ ± ۵/۳	۷۵/۷ ± ۶/۳	۷۷/۳ ± ۶/۴	۲۴	
۰/۷۸	۷۶/۳ ± ۴	۷۵/۷ ± ۴/۵	۷۶/۲ ± ۶/۷	۳۰	
۰/۸۸	۷۵/۹ ± ۴/۷	۷۵/۷ ± ۵	۷۵/۱ ± ۸/۳	۳۶	
۰/۰۴۲	۷۶/۱ ± ۴/۷	۶۹/۷ ± ۷/۱	۷۵/۹ ± ۷/۴	۴۲	
۰/۰۲	۷۰ ± ۶/۷	۷۴/۷ ± ۶/۲	۷۴/۷ ± ۶/۲	۴۸	
۰/۰۸***	<۰/۰۰۱	۰/۰۹	۰/۱۶	P**	
۰/۰۶	۷۵ ± ۱۲	۶۷/۴ ± ۱۱/۳	۷۲/۸ ± ۱۲/۷	۶	
۰/۳۰	۷۴/۵ ± ۱۲	۶۹/۷ ± ۱۳	۷۳/۵ ± ۱۲/۷	۱۲	
۰/۱۲	۷۹/۶ ± ۶/۲	۸۰/۷ ± ۴/۳	۸۲/۵ ± ۵/۵	۱۸	
۰/۳۱	۸۰/۲ ± ۵/۵	۸۱/۸ ± ۳/۴	۸۱/۲ ± ۳/۵	۲۴	
۰/۸۶	۸۰/۵ ± ۴/۱	۸۱/۳ ± ۳/۴	۸۰/۹ ± ۴/۵	۳۰	
۰/۴۹	۷۹/۳ ± ۳/۶	۸۰/۲ ± ۳/۶	۸۰/۱ ± ۳/۳	۳۶	
۰/۳۶	۷۹/۴ ± ۳/۷	۸۰/۳ ± ۲/۶	۸۰/۴ ± ۳	۴۲	
۰/۴۳	۷۹/۶ ± ۹/۲	۸۰/۲ ± ۲/۴	۸۰/۶ ± ۳/۴	۴۸	
۰/۴۹***	۰/۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۰۳	P**	

*: سطح معنی‌داری اختلاف بین سه گروه در هر مقطع زمانی بر حسب آزمون آنالیز واریانس یک طرفه؛ **: سطح معنی‌داری روند تغییرات پارامترها در درون هر گروه بر حسب آزمون آنالیز واریانس با تکرار مشاهدات؛ ***: سطح معنی‌داری روند تغییرات پارامترها بین سه گروه بر حسب آزمون آنالیز واریانس با تکرار مشاهدات

زمان آینه در ساعت ۳۰ و ۳۶ و میانگین فاصله‌ی زمانی بین عود آینه در ساعات ۳۶ و ۴۲ بین سه گروه اختلاف معنی‌دار داشت. در بررسی

برابر جدول ۳، میانگین و انحراف معیار تعداد آینه در در ساعت ۳۰ بین سه گروه اختلاف معنی‌دار داشت. همچنین میانگین مدت

منظور تأمین بی‌دردی مورد نیاز استفاده می‌شود (۷، ۱۴). داروهای بیهوشی داخل وریدی غیر ایپوئیدی نقش مهمی در عمل بیهوشی مدرن ایفا کرده، در تسهیل القاء سریع بیهوشی عمومی بسیار مورد استفاده قرار گرفته و آرام‌بخشی مناسبی را، برای بیماران ایجاد می‌کنند (۱۶). اما هر دارو معایب و مزایای خود را داشته که در این مطالعه به بررسی معایب و مزایای دوکسپیرام و کافئین در حضور دارونما پرداخته شده است. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که نوع مداخله بر تغییرات درصد اکسیژن اشباع، فشارخون دیاستولی و تعداد ضربان قلب در دقیقه، تفاوت معنی‌داری ایجاد نمود؛ اما تغییرات معنی‌داری در فشارخون سیستول و در گروه شاهد (دارونما) مشاهده شد.

درون‌گروهی، روند تغییرات هر سه پارامتر مذکور در طی زمان در درون هر سه گروه اختلاف معنی‌دار داشت ولی در بررسی بین‌گروهی، روند تغییرات دفعات آپنه، ($P = 0/02$) و مدت زمان آپنه ($P = 0/04$) و فاصله‌ی زمانی بین عود آپنه ($P = 0/02$) بین سه گروه اختلاف معنی‌دار داشت. قابل ذکر است بر حسب آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، هیچ یک از پارامترهای زمینه‌ای دارای تأثیر معنی‌دار در تغییرات آپنه نبودند.

بحث

در عمل‌های جراحی از روش‌های مختلف بیهوشی و بی‌حسی به

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار پارامترهای آپنه به تفکیک گروه درمانی و زمان

P1	گروه			زمان	متغیر
	دوکسپیرام	کافئین	شاهد		
0/06	7/20 ± 2	8/2 ± 1/3	7/87 ± 1/6	6	تعداد آپنه
0/06	2/9 ± 1/9	2/5 ± 1/5	2/5 ± 1/5	12	
0/72	1/5 ± 1/4	1/63 ± 1/3	1/8 ± 1/4	18	
0/12	1 ± 1/2	1/30 ± 1/1	1/57 ± 0/6	24	
<0/001	0/5 ± 0/9	1/57 ± 1/3	1/9 ± 0/9	30	
0/08	0/5 ± 0/6	1 ± 0/3	0/70 ± 0/6	36	
0/11	0/27 ± 0/7	0/77 ± 1/6	0/27 ± 0/6	42	
°	.	.	0/2 ± 0/6	48	
0/02	<0/001	<0/001	<0/001	P4	
0/13	13/2 ± 3/8	14/8 ± 2/9	1/32 ± 2/9	6	مدت زمان آپنه
0/03	6/97 ± 4/1	9/17 ± 3/1	7/3 ± 3	12	
0/18	5/43 ± 3/6	6/6 ± 2/9	5/3 ± 2/9	18	
0/78	3/5 ± 3/6	3/47 ± 3	3/97 ± 2/8	24	
0/02	2/37 ± 2/4	3/3 ± 2/7	4/07 ± 2	30	
<0/001	0/97 ± 1/5	3/13 ± 2/8	3/33 ± 1/7	36	
0/01	0/47 ± 0/3	2/07 ± 3/1	1/17 ± 1/2	42	
0/17	0/23 ± 0/7	0/77 ± 0/6	47 ± 0/8	48	
0/04	<0/001	<0/001	<0/001	P4	
0/07	55 ± 19/4	45/8 ± 41/9	49 ± 15/4	6	فاصله بین عود آپنه
0/22	131/2 ± 83/3	135/5 ± 88/3	170 ± 92	12	
0/31	210/7 ± 118/6	261/9 ± 119/8	225/4 ± 91/4	18	
0/72	252/1 ± 108/5	233/8 ± 105/6	195/6 ± 84/2	24	
0/41	217/5 ± 90/4	172/5 ± 85/9	228/4 ± 91/4	30	
0/04	217/5 ± 90/4	172/5 ± 85/9	195/5 ± 84/2	36	
0/02	330 ± 34/6	247/1 ± 83/4	274/3 ± 9/7	42	
°	.	.	33/3 ± 55/7	48	
0/02	<0/001	<0/001	<0/001	P	

°: سطح معنی‌داری اختلاف بین سه گروه در هر مقطع زمانی بر حسب آزمون آنالیز واریانس یک طرفه؛ °°: سطح معنی‌داری روند تغییرات پارامترها در درون هر گروه بر حسب آزمون آنالیز واریانس با تکرار مشاهدات؛ °°°: سطح معنی‌داری روند تغییرات پارامترها بین سه گروه بر حسب آزمون آنالیز واریانس با تکرار مشاهدات

کافئین بر روی سطح هوشیاری و پارامترهای تنفسی بعد از عمل، نشان دادند که بعد از تزریق کافئین به بیماران، میزان نمره‌ی Richmond Agitation Sedation Scale به صورت معنی‌داری افزایش یافت (۱۰) و هیچ گونه عوارض قلبی و عروقی مرتبط با تزریق کافئین یافت نشد که با مطالعه‌ی حاضر همسو بود.

Bamgade. استفاده از دوکسپرام برای بهبودی پس از بیهوشی در بیماران جراحی چاقی با آکنه‌ی انسدادی خواب را بسیار مفید ارزیابی کرد (۲۰).

Kim و همکاران نیز در یافتند، آمینوفیلین ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن یا دوکسپرام ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، زمان ریکاوری را کاهش می‌دهد و بر پارامترهای تنفسی اثرات بهبود دهنده دارد (۲۱).

Vliegthart و همکاران نیز دریافتند که استفاده از دوکسپرام اثرات مفید و معنی‌داری بر روی پارامترهای تنفسی نوزادان دارد که با مطالعه‌ی حاضر همسو بود (۲۲).

در عین حال هر چند که نتایج مطالعه‌ی ما نشان‌دهنده‌ی اثرات مثبت دوکسپرام بر پارامترهای آپنه می‌باشد ولی به علت محدودیت‌های این مطالعه از جمله کمی حجم نمونه و کوتاه بودن دوره‌ی پیگیری و از طرف دیگر عوارض دوکسپرام بویژه هایپرنتشن و دیس‌پنه، پیشنهاد می‌گردد مطالعات بیشتری در این زمینه انجام گیرد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر حاکی از آن بود که استفاده از دوکسپرام و کافئین، کاهش قابل قبولی در پارامترهای مدت زمان آپنه و تعداد آن ایجاد نمود؛ همچنین توانست فاصله‌ی زمانی بین آن را بهبود بخشد. لذا به نظر می‌رسد استفاده از دوکسپرام حداقل به اندازه‌ی کافئین در کنترل پارامترهای همودینامیک و تنفسی مؤثر است.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از طرح تحقیقاتی / پایان‌نامه مقطع دکترای تخصصی رشته بیهوشی می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به تصویب رسیده و با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه مذکور به انجام رسیده است. بدینوسیله از زحمات ایشان تقدیر و تشکر می‌شود.

در حیطه‌ی پارامترهای مرتبط با آپنه نیز نوع مداخله بر تعداد آپنه تفاوت معنی‌داری ایجاد نمود؛ به طوری که تعداد حمله‌ی آپنه به طور معنی‌داری در گروه دوکسپرام کمتر مشاهده شد. همچنین مدت آپنه به طور معنی‌داری در گروه دریافت‌کننده‌ی دوکسپرام رو به کاهش نهاد و بالعکس فاصله‌ی بین عودهای مکرر آب تنها در گروه دوکسپرام روند افزایشی نشان داد.

در این باره، احصایی و همکاران در مطالعه‌ای که در مورد نارسایی حاد تنفسی به دنبال ترومای نخاع گردنی انجام دادند، دریافتند با توجه به عوارض ایجاد شده در جراحی‌های مربوطه، به کارگیری روش‌های درمانی مناسب و فوری می‌تواند از میزان ناتوانی و مرگ و میر بیماران با آسیب گردن و ستون فقرات بکاهد (۱).

Golder و همکاران نیز بیان داشتند داروهایی که محرک سیستم تنفسی هستند، می‌توانند بر پارامترهای تنفسی بیماران بعد از عمل‌های جراحی تأثیر مثبتی بگذارند؛ از جمله دوکسپرام به عنوان یک عامل آنا لپتیک با سیستم تهویه شناخته شده است، اگرچه به علت عوارضی که این دارو در مطالعات از خود نشان داده، مصرف محدودی پیدا کرده، ولی در بیمارانی که در بخش آی‌سی‌یو بستری بوده و دچار نارسایی و سرکوب تنفسی هستند، می‌تواند مفید واقع گردد (۸).

Yost، نیز بیان داشت مطالعات اخیر علوم پایه، پیشرفت قابل توجهی در درک مکانیسم مولکولی عملکرد محرک تنفسی دوکسپرام، در بهبود تنفسی خصوصاً پس از اعمال جراحی داشته است (۱۷).

سادات و همکاران نیز در رابطه با تأثیر درمانی فاکتورهای مختلف بر پارامترهای تنفسی بیماران، نشان دادند، مصرف قهوه، که دارای کافئین است، منجر به افزایش تنفس خود به خودی و همچنین افزایش حجم جاری شد؛ اما بر سایر پارامترهای تنفسی تنظیم نداشته (۱۸) که با مطالعه‌ی حاضر همسو بود. در مطالعه‌ی حاضر نیز نوع مداخله به غیر از فشارخون سیستمول در سایر موارد تأثیر معنی‌داری ایجاد نکرد.

Gouda، نیز استفاده از کافئین برای بیمارانی که دچار آپنه‌ی خواب و کاندید عمل جراحی شده بودند، مورد استفاده قرار داد و دریافت که استفاده از کافئین منجر به کاهش زمان ریکاوری بعد از عمل در بیماران شد. میزان زمان بستری بیماران را نیز کاهش داد. همچنین تأثیرات مثبتی بر روی پارامترهای تنفسی بیماران داشت (۱۹).

Warner و همکاران نیز به منظور بررسی اثرات استفاده از

References

- Ahsaei MR, Samini F, Bahadorkhan GR. Evaluation of acute respiratory failure after cervical spinal cord injury in Mashhad Shahid Kamyab Hospital [in Persian]. Iran J Otorhinolaryngol 2010; 21(5758): 145-52.
- Shapiro A, Zohar E, Zaslansky R, Hoppenstein D, Shabat S, Fredman B. The frequency and timing of respiratory depression in 1524 postoperative patients treated with systemic or neuraxial morphine. J Clin Anesth 2005; 17(7): 537-42.
- Yang L, Zhu L, Shi X, Miao CH, Yuan HB, Liu ZQ, et al. Postoperative pulmonary complications in older

- patients undergoing elective surgery with a supraglottic airway device or tracheal intubation. *Anaesthesia* 2023; 78(8): 953-62.
4. Weiss Y, Zac L, Refaeli E, Ben-Yishai S, Zegerman A, Cohen B, et al. Preoperative cognitive impairment and postoperative delirium in elderly surgical patients: A retrospective large cohort study (The CIPOD study). *Ann Surg* 2023; 278(1): 59-64.
 5. Osman AM, Carte SG, Carberry JC, Eckert DJ. Obstructive sleep apnea: current perspectives. *Nat Sci Sleep* 2018; 10: 21-34.
 6. Taylor S, Kirton OC, Staff I, Kozol RA. Postoperative day one: a high risk period for respiratory events. *Am J Surg* 2005; 190(5): 752-6.
 7. Rodriguez-Monguio R, Lun Z, Bongiovanni T, Chen CL, Seoane-Vazquez E. Postoperative respiratory events in surgical patients exposed to opioid analgesic shortages compared to fully matched patients non-exposed to shortages. *Drug Saf* 2022; 45(4): 359-67.
 8. Golder FJ, Hewitt MM, McLeod JF. Respiratory stimulant drugs in the post-operative setting. *Respir Physiol Neurobiol* 2013; 189(2): 395-402.
 9. Jacobson KA, Gao ZG, Matricon P, Eddy MT, Carlsson J. Adenosine A2A receptor antagonists: from caffeine to selective non-xanthines. *Br J Pharmacol* 2022; 179(14): 3496-511.
 10. Warner NS, Warner MA, Schroeder DR, Sprung J, Weingarten TN. Effects of caffeine administration on sedation and respiratory parameters in patients recovering from anesthesia. *Bosn J Basic Med Sci* 2018; 18(1): 101-4.
 11. Mueni E, Opiyo N, English M. Caffeine for the management of apnea in preterm infants. *Int Health* 2009; 1(2): 190-5.
 12. Dai HR, Guo HL, Hu YH, Xu J, Ding XS, Cheng R, et al. Precision caffeine therapy for apnea of prematurity and circadian rhythms: New possibilities open up. *Front Pharmacol* 2022; 13: 1053210.
 13. Rae ID. Responses by Australian pharmacologists to respiratory depression caused by opiates and barbiturates. *Hist Rec Aust Sci* 2022; 33(1): 1-11.
 14. Henderson-Smart DJ, Steer P. Prophylactic caffeine to prevent postoperative apnoea following general anaesthesia in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2001; (4): CD000048.
 15. Naved SA, Siddiqui S, Khan FH. APACHE-II score correlation with mortality and length of stay in an intensive care unit. *J Coll Physicians Surg Pak* 2011; 21(1): 4-8.
 16. Komatsu R, Sengupta P, Cherynak G, Wadhwa A, Sessler DI, Liu J, et al. Doxapram only slightly reduces the shivering threshold in healthy volunteers. *Anesth Analg* 2005; 101(5): 1368-73.
 17. Yost CS. A new look at the respiratory stimulant doxapram. *CNS Drug Rev* 2006; 12(3-4): 236-49.
 18. Sadat Z, Salehi N, Afazel MR, Aboutalebi MS. The effect of espresso coffee consumption through gastric tube on respiratory indicators among mechanically ventilated patients: a randomized clinical trial [in Persian]. *Hayat* 2017; 23(2): 185-95.
 19. Gouda NM. Intravenous caffeine for adult patients with obstructive sleep apnea undergoing uvulopalatopharyngoplasty: effects on postoperative respiratory complications and recovery profile. *Med J Cairo Univ* 2010; 78(2): 155-9.
 20. Bamgbade OA. Advantages of doxapram for post-anaesthesia recovery and outcomes in bariatric surgery patients with obstructive sleep apnoea. *Eur J Anaesthesiol* 2011; 28(5): 387-8.
 21. Kim DW, Joo JD, In JH, Jeon YS, Jung HS, Jeon KB, et al. Comparison of the recovery and respiratory effects of aminophylline and doxapram following total intravenous anesthesia with propofol and remifentanyl. *J Clin Anesth* 2013; 25(3): 173-6.
 22. Vliegthart RJ, Hove CHT, Onland W, van Kaam AHL. Doxapram treatment for apnea of prematurity: a systematic review. *Neonatology* 2017; 111(2): 162-71.

Comparison of the Effect of Caffeine and Doxapram on Respiratory and Hemodynamic Parameters of Patients Admitted to the Intensive Care Unit after Spinal Surgery

Babak Alikiaei¹, Seyed Taghi Hashemi², Mohamadhasan Houshmandi³, Ali Mehrabi Koushki⁴

Original Article

Abstract

Background: The present study was conducted to compare the effects of caffeine and doxapram on respiratory and hemodynamic parameters of patients admitted to the intensive care unit after spine surgery.

Methods: The current study is a randomized clinical trial that was performed on patients who are candidates for spine surgery at Al-Zahra Hospital in Isfahan. 90 patients who were candidates for spine surgery were divided into three groups of 30 with doxapram, caffeine, and placebo using the block randomization method (with 9 blocks). Hemodynamic variables, number of apneas, duration of apnea, and the time interval between recurrence of apnea were monitored and recorded every 6 hours to 48 hours after surgery.

Findings: The mean percentage of oxygen saturation, diastolic blood pressure, and heart rate did not show a significant difference between the three groups. However, systolic blood pressure was significantly higher in the control group. The mean number of apneas in patients and also the mean duration of apnea in the doxapram group were lower. In this regard, the time interval between the recurrence of apnea in the doxapram group was more than the other two treatment groups.

Conclusion: Doxapram had a stronger effect than caffeine in reducing the parameters of apnea duration and its number; it was also able to improve the time interval between them.

Keywords: Apnea; Caffeine; Doxapram, Hemodynamics; Respiratory system agents

Citation: Alikiaei B, Hashemi ST, Houshmandi M, Mehrabi Koushki A. **Comparison of the Effect of Caffeine and Doxapram on Respiratory and Hemodynamic Parameters of Patients Admitted to the Intensive Care Unit after Spinal Surgery.** J Isfahan Med Sch 2023; 41(740): 938-45.

1- Associate Professor, Department of Anesthesiology, Anesthesiology and Critical Care Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Anesthesiology, Anesthesiology and Critical Care Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Resident, Department of Anesthesiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- MSc of Epidemiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Ali Mehrabi Koushki, MSc of Epidemiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: al.mehrabi@gmail.com

Editorial Board (In alphabetical order)

1. Khosrow Adeli PhD Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
2. Ali Akhavan MD Assistant Professor of Radiation Oncology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3. Mohammadreza Akhlaghi MD Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4. Reza Amin MD Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
5. Babak Amra MD Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6. Saeed A. Jortani PhD Professor of Pathology, University of Louisville, Louisville, KY, USA
7. Reza Bagherian-Sararoudi PhD Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. Majid Barekatain MD Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. Ken Bassett MD, PhD Professor of Therapeutics Initiative, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada
10. Ahmad Chitsaz MD Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
11. Shahin Emami PhD Department of Biochemistry, Saint Antoine Hospital, French Institute of Health and Medical Research, Paris, France
12. Ebrahim Esfandiary MD, PhD Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
13. Ahmad Esmaeilzadeh PhD Professor of Nutrition, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
14. Ziba Farajzadegan MD Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
15. Aziz Gahari MD Professor of Plastic Surgery, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada
16. Jafar Golshahi MD Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
17. Mostafa Hashemi MD Associate Professor of Otolaryngology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
18. Saied Morteza Heidari MD Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. Ali Hekmatnia MD Professor of Radiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
20. Fariba Iraj MD Professor of Dermatology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
21. Faramarz Ismail-Beigi MD, PhD Professor of Endocrinology, University Hospitals Cleveland Medical Center, Cleveland, OH, USA
22. Roya Kelishadi MD Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. Behnaz Khani MD Associate Professor of Obstetrics and Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
24. Majid Keiroollahi PhD Associate Professor of Genetics and Molecular Biology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
25. Parvin Mahzooni MD Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. Marjan Mansourian PhD Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
27. Mohammad Mardani MD Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. Mehdi Modarres-Zadeh MD Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
29. Etie Moghisi MD Associate Professor of Endocrinology, Marina Diabetes and Endocrinology Center, Marina del Rey, CA, USA
30. Mohammadreza Nourbakhsh PhD Professor of Physiotherapy, North Georgia College, Dahlonega, GA, USA
31. Farzin Pourfarzad PhD Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, the Netherlands
32. Masoud Pourmoghaddas MD Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
33. Maryam Radahmadi PhD Associate Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
34. Hassan Razmjou MD Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
35. Reza Rouzbahani MD Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. Masih Saboori MD Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
37. Mohammad Reza Safavi MD Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
38. Rasoul Salehi PhD Assistant Professor of Genetics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
39. Mansour Sholevar MD Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. Mohammadreza Sharifi MD, PhD Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. Masoud Soheilian MD Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 41, No. 740, December 2023

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman: Saied Morteza Heidari MD

Emerita Editor-in-Chief: Roya Kelishadi MD

Editor-in-Chief: Reza Khadivi MD

Owner:

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

Office:

P.B. Box 81744-176, Isfahan, Iran
Tel/fax: +98 31 37922291
Email: jims@med.mui.ac.ir
Website: <http://jims.mui.ac.ir>

Executive Manager: Marjan Zareian MD

Office Secretary: Bentolhoda Heidari

Publisher:

Arman Research Institute

Email: armri.org@gmail.com

<http://armri.org>

Tel/fax: +98 31 36532345

Circulation: 500

This journal is indexed in the following indexers

- Scopus
- EMBASE
- Chemical Abstracts
- Directory of Open Access Journals (DOAJ)
- Google Scholar
- Islamic World Science Citation Center (ISC)
- WHO/EMRO/Index Medicus
- Scientific Information Database (SID)
- Academic Search Complete EBSCO Publishing databases
- Magiran
- Index Copernicus
- Index Academicus
- Iran Medex

The online version is available in; IUMS website (www.journals.mui.ac.ir/jims), Iran

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

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL



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

Weekly Vol. 41, No. 740, 4th Week, December 2023

Original Articles

Comparison of the Effects of the DASH Diet with a Low-Calorie Diet on Serum Levels of Spexin, Leptin, and Adiponectin in Overweight and Obese Adults: A Clinical Trial 928
Hamed Jafari-Vayghan, Jalal Moludi

A Comparison of the Efficiency of the T7-Endonuclease I Enzyme and Polyacrylamide Gel Electrophoresis System in Evaluating the Cleavage Efficiency of the CRISPR/Cas9 System 937
Nasim Mayeli Fereydani, Hamid Galehdari, Elham Hoveizi, Monireh Ajami

Comparison of the Effect of Caffeine and Doxapram on Respiratory and Hemodynamic Parameters of Patients Admitted to the Intensive Care Unit after Spinal Surgery 945
Babak Alikiaei, Seyed Taghi Hashemi, Mohamadhasan Houshmandi, Ali Mehrabi Koushki