

Investigating the Effects of Zinc (Zn) Supplementation on the Levels of Oxidative Stress and Inflammation Markers in Multiple Myeloma Patients Undergoing Autologous Bone - Marrow Transplantation

Kasra Jahankhani¹, Hossein Behboudi², Maryam Nikoonezhad³, Niloofar Taghipour⁴, Mahshid Mehdizadeh^{3*}, Abbas Hajifathali³, Dariush Kadkhoda⁵, Nariman Mosaffa^{1*}

1. Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. Faculty of Biology, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
3. Hematopoietic Stem Cell Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4. Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, School of Advanced Technologies in Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
5. Department of Biostatistics, School of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: April 21, 2023; Accepted: June 14, 2023

Abstract

Background and Aim: Many cancer patients suffer from irreparable complications under the influence of oxidative stress. The administration of effective supplements to control and inhibit the action of oxidative radicals has recently attracted the attention of doctors and researchers. In particular, zinc supplementation is one of the minerals most relevant to the human health because of its antioxidant properties. Zinc acts as a cofactor for important enzymes involved in the proper functioning of the antioxidant defense system. In addition, zinc protects cells from oxidative damage. By conducting the present study, the effect of zinc dietary supplements in improving the treatment process of multiple myeloma (MM) patients who underwent autologous bone - marrow transplantation was investigated in terms of oxidative radical changes.

Methods: This study was a double - blind, placebo - controlled clinical trial. The study participants were randomly divided into two groups of 20, zinc gluconate (Zn) and placebo. On days 0, +15, and +30 after transplantation, patients received three 30 mg zinc gluconate tablets or placebo daily. The serum levels of zinc and copper of the patients were measured before the intervention and on day 30 after transplantation. The change in NADPH oxidase 2 (Nox2) gene expression was measured by real - time PCR method. The activity of nitrite (Nitric Oxide) and malondialdehyde (Malondialdehyde) metabolites were measured with Thiobarbituric acid and Griess methods, respectively. Analysis of the findings and graphs were done using SPSS Version 27 software. Mann - Whitney test was used to measure the difference in the number of biochemical variables between the intervention group and the placebo group, since the data was not distributed normally. GraphPad Prism 8 software and one-way ANOVA and unpaired t-test were used to measure the difference in gene expression changes.

Results: During the nutritional questionnaire, it was observed that the placebo group had more zinc, and the estimated difference between the two groups was determined to be 1.236. The expression of NOX2 gene showed a significant decrease (P -value < 0.05) compared to the control group after 30 days. The MDA values and Griess test findings did not change significantly after zinc supplementation, but a decrease was seen in the zinc group compared to the placebo group (P -value > 0.05).

Conclusion: It seems that zinc supplementation is effective for controlling oxidative stress and inflammation.

Keywords: Multiple myeloma; zinc; oxidative stress; bone marrow transplantation; gene expression

Please cite this article as: Jahankhani K, Behboudi H, Nikoonezhad M, Taghipour N, Mehdizadeh M, Hajifathali A, Kadkhoda D, Mosaffa N. Investigating the Effects of Zinc (Zn) Supplementation on the Levels of Oxidative Stress and Inflammation Markers in Multiple Myeloma Patients Undergoing Autologous Bone - Marrow Transplantation. Pejouhesh dar Pezeshki. 2023;47(3):1-17.

*First Corresponding Author: Mahshid Mehdizadeh; Email: Mahshid_mehdizadeh@yahoo.com
Hematopoietic Stem Cell Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

*Second Corresponding Author: Nariman Mosaffa; Email: yasmaryan@gmail.com
Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.



بررسی تأثیر مکمل روی (Zn) بر تغییرات سطح مارکرهای مرتبط با استرس اکسیداتیو و التهاب در بیماران مالتیپل میلوما تحت پیوند مغز استخوان اتولوگ

کسری جهان خانی^۱، حسین بهبودی^۲، مریم نیکونژاد^۳، نیلوفر تقی پور^۴، مهشید مهدیزاده^{۵*}، عباس حاج فتحعلی^۳
داریوش کدخدای^۶، نریمان مصfa^۷

- ۱- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۲- گروه بیولوژی، بیوهوشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۳- مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی خونساز (HSCRC)، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۴- گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۵- گروه آمار زیستی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۰۱

چکیده

سابقه و هدف: بسیاری از بیماران سرتانی تحت تأثیر استرس اکسیداتیو دچار عوارض جیران‌نایزدیر می‌شوند. تجویز مکمل‌های مؤثر بر کنترل و مهار عملکرد رادیکال‌های اکسیداتیو اخیراً مورد توجه پژوهشکان و محققان قرار گرفته است. به طور خاص، مکمل روی یکی از مواد معدنی مرتبط با سلامت انسان است، زیرا دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است. روی به عنوان یک عامل کمکی برای آنزیم‌های مهم در گیری در عملکرد صحیح سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی عمل می‌کند. علاوه بر این، روی از سلول‌ها در برایر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند. با انجام مطالعه حاضر تأثیر مکمل خوارکی "روی" در بهبود روند درمان بیماران مالتیپل میلوما (MM) که تحت پیوند اتوگ مغز استخوان قرار گرفته‌اند از لحاظ تغییرات رادیکال‌های اکسیداتیو برسی شد.

روش کار: این مطالعه یک کارآزمایی بالینی دوسوکور و کنترل شده با دارونما بود. شرکت‌کنندگان در مطالعه به طور تصادفی در دو گروه ۲۰ نفری، گلوکونات روی (Zn) و دارونما قرار گرفتند. بیماران در روزهای ۰، ۱۵+، ۳۰+ بعد از پیوند، روزانه سه قرص گلوکونات روی ۳۰ میلی‌گرم یا دارونما دریافت کردند. سطح سرمی روی و مس بیماران قبل از شروع مداخله و در روز ۳۰ بعد از پیوند در سرم سنجش شد. تغییر بیان ژن (Nox2) با روش Rيل PCR انجام شد. فعالیت متabolیت‌های نیتریت (Nitroc Oxide) و مالون دی‌آلدئید (Malondialdehyde) اندازه‌گیری شد. تحلیل یافته‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار SPSS Version 27 انجام شد. برای سنجش تفاوت در میزان متغیرهای بیوشیمیایی و التهابی بین گروه مداخله و دارونما از آنجا که شرایط نرمال بودن در داده‌ها برقرار نبود، از آزمون من- ویتنی استفاده شد. برای سنجش تفاوت در میزان تغییرات بیان ژن از نرم‌افزار Graphpad Prism 8 و آزمون unpaired t-test و One-way anova استفاده شد.

یافته‌ها: طی پرسشنامه تغذیه مشاهده شد که گروه دارونما روی بیشتری داشته و میزان تفاوت برآورد شده بین میانه دو گروه ۱/۲۳۶ تعیین شد. بیان ژن NOX2 پس از ۳۰ روز کاهش معناداری ($P < 0.05$) را نسبت به گروه کنترل نشان داد. مقدار MDA و یافته‌های تست گریس بعد از مکمل روی به صورت معناداری تغییر نکرد، اما کاهش در گروه روی به نسبت گروه دارونما دیده شد ($P > 0.05$).

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد که مکمل روی در کنترل استرس اکسیداتیو و التهاب این بیماران مؤثر است.

واژگان کلیدی: مالتیپل میلوما؛ زینک (روی)؛ استرس اکسیداتیو؛ پیوند مغز استخوان؛ بیان ژن به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Jahankhani K, Behboudi H, Nikoonezhad M, Taghipour N, Mehdizadeh M, Hajifathali A, Kadkhoda D, Mosaffa N. Investigating the Effects of Zinc (Zn) Supplementation on the Levels of Oxidative Stress and Inflammation Markers in Multiple Myeloma Patients Undergoing Autologous Bone - Marrow Transplantation. Pejouhesh dar Pezeshki. 2023;47(3):1-17.

*اولین نویسنده مسئول مکاتبات: مهشید مهدیزاده؛ آدرس پست الکترونیکی: Mahshid_mehdizadeh@yahoo.com

مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی خونساز (HSCRC)، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

**دومین نویسنده مسئول مکاتبات: نریمان مصfa؛ آدرس پست الکترونیکی: yasamaryan@gmail.com

گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.



مقدمه

معدنی است. با وجودی که مواد معدنی برای سلامتی و عملکرد طبیعی بدن ضروری هستند، اما تنها ۵ درصد از رژیم غذایی طبیعی انسان را تشکیل می‌دهند (۱۱).

"روی" به عنوان یک ماده معدنی کمیاب، به عملکرد صحیح سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی کمک می‌کند. علاوه بر این، از سلول‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند. بر اساس مطالعه‌های اپیدمیولوژیک، کمبود روی منجر به افزایش شانس ابتلا به انواع مختلف سرطان مانند سرطان سینه (۱۲)، سرطان ریه (۱۳)، سرطان کولورکتال (۱۴) و کارسینوم کبدی (۱۵) می‌شود. نقش روی در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به طور گسترده بررسی شده است. مطالعه‌ها نقش آن را در تنظیم گلوتاتیون پراکسیداز و در بیان متالوتیونین^۷ و همچنین نقش آن به عنوان یک عامل کمکی برای سوپراکسید دیسموتاز چشمگیر است. روی از طرق مختلف سمیت ROS را کاهش می‌دهد.

بنابراین، حفظ غلظت کافی روی در محفظه‌های سلولی برای عملکرد مناسب سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی ضروری است و به دلیل نقش مهم این مکمل در دفاع آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از التهاب، مکمل روی برای این تحقیق انتخاب شد.

Nox2 منبع اصلی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است که در آسیب اکسیداتیو دخیل هستند (۱۶). NOX2، عمدتاً در سلول‌های فاگوسیتی مانند نوتروفیل‌ها و ماکروفازها بیان می‌شود و مسئول تولید سوپراکسید در طول انفجار تنفسی است، فرآیندی که در آن ROS به سرعت در فاگوزوم‌ها برای از بین بردن پاتوژن‌های میکروبی تولید می‌شود (۱۷). رادیکال اکسید نیتریک (NO)، که برخی از نقش‌های فیزیولوژیکی مهم را ایفا می‌کند، از اکسیداسیون آرژنین به سیترولین توسعه نیتریک اکسید سنتاز (NOS^۸) سنتز می‌شود (۱۸). میانگین غلظت NOx (نیتریت و نیترات) در پلاسمای بیماران MM بالا گزارش شده است. تولید سطح بالای NOx در بیماران MM مورد توجه قرار گرفته است (۱۹). مالون دی‌آلدئید (MDA)، محصول اصلی اکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده پراکسید شده، به

استرس اکسیداتیو پدیده‌ای است که به دلیل نبود تعادل بین تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در سلول‌ها و بافت‌ها ایجاد می‌شود. رادیکال‌های سوپراکسید (O₂⁻، پراکسید هیدروژن (H₂O₂)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) و اکسیژن (ROS) منفرد (O₂) معمولاً به عنوان گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) تعریف می‌شوند (۱، ۲). سلول‌ها یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی را بر اساس اجزای آنزیمی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD^۱، کاتالاز^۲ (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx^۳) به کار می‌گیرند تا از آسیب سلولی ناشی از ROS محافظت کنند (۳).

مالتیپل میلوما (MM^۴) حاصل یک تکثیر بدخیم پلاسماسل‌ها و سلول‌های پلاسماسیتوبلود در مغز استخوان (BM^۵) است (۴). مالتیپل میلوما سرطان شایعی نیست. در ایالات متحده تنها ۱/۸ درصد از کل بدخیمی‌ها را نشان می‌دهد. سن متوسط ابتلا ۷۰ سال و در مردان بیش از زنان وجود دارد و در ایران نیز این گزارش‌های مشابه است (۵-۷).

در MM، تجویز سلول‌های بنیادی خونساز^۶ سالم در بیماران مبتلا به مغز استخوان ناکارآمد یا ضعیف، یکی از راههای درمان کمکی است که به تقویت عملکرد مغز استخوان کمک می‌کند و بسته به بیماری تحت درمان، اجازه می‌دهد تا سلول‌های توموری را از بین برند یا سلول‌های ناکارآمد شوند. پیوندهای اتولوگ حداقل در چند سال اول پس از پیوند بقای کلی بهتری نسبت به پیوند آلوگرافت دارند (۸، ۹). مشخص شده است که شیمی درمانی و پرتو درمانی به دنبال پیوند، با تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها مرتبط هستند (۱۰).

امروزه درمان‌های دیگری مانند مکمل درمانی که تهاجمی نیستند، در حال پیشرفت‌اند. یکی از آنها استفاده از مکمل‌های

^۱ Superoxide dismutase

^۲ Catalase

^۳ Glutathione Peroxidase 1

^۴ Multiple myeloma

^۵ Bone Marrow

^۶ Hematopoietic Stem Cell Transplantation

^۷ Metallothionein (MT)

^۸ Nitric oxide synthase

صرف قرص‌ها با ارسال پیامک به بیماران یادآوری شد. سطح "روی" و "مس" به دلیل تداخل در جذب "روی" قبل از پیوند و پایان مطالعه در سرم سنجش شده است.

پژوهش مورد بررسی ما کد IRCT20211227053546N1 بود که بیماران بعد از پایان دوره‌های درمانی بدخیمی توسط پزشک معالج انکولوژیست به کمیته پیوند بیمارستان آیت ا. طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی معرفی شدند و بر طبق نظر پزشکان فوق تخصص انکولوژی و خونشناسی بخش پیوند مغزاًستخوان بیمارستان آیت ا. طالقانی کاندید دریافت عدم ورود به مطالعه با بررسی پرونده پزشکی و پرسش مستقیم از بیمار بررسی شدند. در صورت حائز شرایط بودن بیمار، ابتدا توضیحاتی به صورت شفاهی در مورد اهداف مطالعه، روش انجام آن و عوارض و فواید احتمالی به بیماران ارائه شد و در صورت تمایل به همکاری بیماران، از آنها خواسته شد تا رضایت‌نامه آگاهانه کتبی را تکمیل کنند. سپس اطلاعات مربوط به مشخصات فردی بیماران شامل قد و وزن، سن، شغل، سطح تحصیلات، داروها و مکمل‌های مصرفی در یک‌سال گذشته، سابقه خانوادگی ابتلا به بیماری، حساسیت غذایی، سابقه پیروی از رژیم غذایی خاص، وضعیت مصرف مکمل‌های خوراکی، دخانیات توسط یک مصاحبه‌کننده مجرب از آنها جمع‌آوری شد. نمونه‌گیری به روش آماده در دسترس و براساس معیارهای ورود به مطالعه بود. حجم نمونه با استفاده از فرمول زیر که برای کارآزمایی‌های بالینی از نوع موازی پیشنهاد شده است محاسبه شد:

$$n = [(z_1 - \alpha/2 + z_1 - \beta)^2 \cdot s^2] / d^2$$

- (خطای نوع اول) 0.05 در نظر گرفته شد.
- (خطای نوع دوم) 0.2 در نظر گرفته شد. (power مطالعه برابر با 90% بود).

عنوان شاخص مهم پراکسیداسیون لیپیدی در نظر گرفته شده است (۲۰). غلظت بالای قابل توجهی از MDA کل در پلاسمما و همچنین در گلبول‌های قرمز MM در مقایسه با گروه کنترل یافت شد. سطح MDA آزاد در پلاسمما و در گلبول‌های قرمز بیماران MM کاهش یافته بود (۲۱).

از آنجا که هدف بسیاری از کارآزمایی‌های بالینی کمک به رفع مشکلات سلامتی بیماران به خصوص در بدخیمی‌ها است تا عوارض و پیامدهای آنها را در حداقل میزان بروز پایدار نگاه دارد، مترصد انتخاب بیماران MM به لحاظ نقش مهم التهاب و استرس اکسیداتیو در روند پیشرفت بیماری شدیم. همچنین مکمل روی را که کاربرد شناخته شده‌ای در کنترل عوامل فوق در بسیاری از بدخیمی‌ها دارد را برای اولین بار و برای مطالعه اثر آن انتخاب کردیم. تعداد زیادی از مطالعه‌های بالینی و تجربی نشان داده‌اند که کمبود "روی" با افزایش سطوح بیومارکرهای استرس اکسیداتیو، آسیب DNA و التهاب همراه است.

با توجه به مرور و ملاحظه بروز اختلال‌های اکسیداتیو در MM و افزایش پاتولوژیک آن به دنبال شیمی درمانی و پیوند مغز استخوان لازم بود تا اثربخشی یکی از مهم‌ترین عناصر کاهش‌دهنده این روبیداد را که ریز مغذی "روی" مهمن‌ترین آن است، بر کاهش وقایع التهابی و استرس اکسیداتیو این بیماران مورد مطالعه و تحقیق قرار گیرد. از جمله موارد تحت بررسی، بیان ژن NOX2 و همچنین (nitrite / nitrate) MDA, NOx در سطح فعالیت پروتئینی، قبل و بعد از تجویز مکمل "روی" در بیماران مبتلا به MM تحت درمان با پیوند سلول بنیادی مغز استخوان است.

روش کار

این مطالعه یک کارآزمایی بالینی دوسوکور و کنترل شده با دارونما است که با استفاده از روش طراحی بلوك به صورت تصادفی انجام شد و افراد به شکل تصادفی با روش بلوك‌های جایگشتی به دو گروه "روی" و دارونما قرار گرفتند. قبل از شروع روند پیوند و ۳۰ روز بعد از پیوند میزان سرمی روی و مس و نیز مارکرهای استرس اکسیداتیو ارزیابی شد. ۳۰ روز اول روزانه سه قرص گلوكونات روی و یا دارونما دریافت کردند.

در این مرحله، بر اساس allocation sequence قوطی‌های A یا B به صورت متوالی در شماره‌هایی به صورت مات در پاکتهای بسته‌بندی و در مکانی با رطوبت و دمای مناسب نگهداری شدند. برای ورود به مطالعه، پاکت شماره بعدی به بیمار تحويل داده شد.

بیماران به شکل تصادفی دوسوکور در دو گروه دریافت کننده مکمل "روی" و دارونما قرار گرفتند و از روز ۱+ بعد از پیوند تا ۱ ماه بعد (۳۰+) روزانه ۳ قرص ۳۰ میلی‌گرم "روی" دریافت کردند. دوز انتخابی بر اساس مطالعات انجام شده و با مشاوره مستقیم با نویسنده‌گان مسئول انتخاب شد (۲۴).

برای بررسی وضعیت "روی" در بدن بیماران و نیز به دلیل تداخل جذب "روی" و مس، این دو ریزمغذی در طول مطالعه اندازه‌گیری شدند. نمونه لخته در روزهای ۰+۳۰+ برای نمونه‌گیری، به آزمایشگاه طبی نور فرستاده شد و با استفاده از روش کالریمتریک میزان "روی" با 5-Br-PAPS و cu 5-Br-PAESA سرمه اندازه‌گیری شد (۲۵، ۲۶).

برای اطمینان از نبود تفاوت در دریافت‌های غذایی بین دو گروه مداخله و دارونما و حذف عوامل مخدوشگر ارزیابی پرسشنامه ثبت خوراک سه روزه (۲ روز معمولی و ۱ روز تعطیل) برای هر بیمار در ۲ نوبت، قبل از مداخله و ۳۰ روز پس از مداخله، تکمیل شد. در مجموع هریک از افراد ۶ پرسشنامه ثبت خوراک در طی مطالعه پر کردند. مقادیر به دست آمده از فرم ثبت خوراک با استفاده از راهنمای تبدیل مقیاس‌های خانگی به مقادیر وزنی به گرم تبدیل شدند. میانگین دریافت کالری، درشت مغذی‌ها (پروتئین، کربوهیدرات، چربی) و ریزمغذی‌ها (مواد معدنی، ویتامین‌ها) با استفاده از نرمافزار Nutritionist^۴ و Nutritionist^۴ توسط کارشناسان تغذیه محاسبه شد.

سنجهش بیان ژن NOX2 با تکنیک Real-Time PCR

برای بررسی تغییرات بیان ژن NOX2 از تکنیک Real-time RT-PCR استفاده شد. به طور خلاصه، سلول‌های تک هسته‌ای خون با استفاده از فایکول جدا شده و سپس استخراج RNA با استفاده از Trizol / YTzol pure RNA (شرکت یکتا

- انحراف معیار (S) با استفاده از مطالعه‌های قبلی، واریانس آن ۹ بود.

- مقدار Δ در فرمول فوق الذکر برابر مقدار تفاوت گروه‌ها که معنادار تلقی شود، است. این مقدار با توجه به بودجه موجود نیاز ۴/۵ در نظر گرفته شد (۲۳).

* حجم نمونه ۱۵ نفر برای هر گروه و در مجموع ۳۰ نفر محاسبه شد. با در نظر گرفتن ۲۰ درصد ریزش حجم نمونه نهایی ۳۶ نفر در کل به دست آمد. که به صورت تقریباً ۳۸ بیمار در غالب ۲ گروه وارد مطالعه شدند.

* شرایط عمدۀ ورود به مطالعه قبل از تصادفی سازی: دامنه سنی ۴۰ تا ۶۰ سال، بیمارانی با سابقه MM در وضعیت پاسخ درمان کامل (Complete Response)، بیماران کاندید دریافت پیوند اتولوگ سلول‌های بنیادی خونساز، تأیید سلامت بیمار قبل از دریافت پیوند سلول‌های بنیادی خونساز توسط پزشک متخصص.

شرایط عمدۀ خروج از مطالعه: حساسیت به مکمل خوراکی "روی"، بیمارانی که در طی سه ماه قبل از پیوند مکمل خوراکی روی مصرف کرده‌اند، سطح روی سرم بالاتر از ۲۰۰ میلی‌گرم / دسی لیتر باشد.

به دلیل عوارض دوز بالینی مکمل روی در مطالعه حاضر ۳۰ روز دوز بالا (روزانه ۳ قرص "گلوکونات روی" حاوی ۳۰ میلی‌گرمی زینک پایه) تجویز شد. همچنین به منظور کاهش عوارض گوارشی مکمل خوراکی روی از ترکیب "گلوکونات روی" به جای "سولفات روی" از کمپانی دینه استفاده شد (۲۳). دارونما با شکل و رنگ مشابه قرص‌های مکمل توسط دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (ره) تهیه شد.

بیمارانی که کاندیدای HSCT قرار گرفتند، با روش تصادفی سازی با استفاده از بلوک‌های جایگشتی به اندازه چهار با تولید تصادفی ۱۰ بلوک (هر بلوک شامل دو A و دو B) در دو گروه بیست نفری، مداخله و دارونما قرار گرفتند. تصادفی سازی توسط دستیار محقق انجام شد که با بیماران در ارتباط نبود و نسبت به گروه‌های مطالعه نابینا بود.

جدول ۱ توالی پرایمراهای استفاده شده برای اندازه‌گیری تغییر بیان ژن NOX2 با روش Real-time PCR را نشان می‌دهد.

جدول ۱- توالی پرایمراهای استفاده شده برای اندازه‌گیری تغییر بیان ژن NOX2 با روش Real-time PCR

Gene name	Primer sequence	Amplicon length(bp)
NOX2	Forward: CCTAAGATAGCGGTTGATGG Reverse: GACTTGAGAATGGATGCGAA	119
GAPDH	Forward: CCACTCCTCACCTTGACG Reverse: CCACCACCCTGTTGCTGTAG	107

سطح مالون دی‌آلدئیک اسید (MDA) با روش تیوباربیتوريک اسید تعیین شد.^۹

۱- نیم میلی‌لیتر خون از بیماران اخذ شد. از نمونه سرم بیماران، مقدار ۵۰ میکرولیتر برداشته شد.

۲- یک محلول ذخیره (stock) ۳۵ میلی مولار CuCl₂ در اسید استیک (pH = 4) تهیه شد.

۳- ۳ میکرولیتر از محلول ذخیره CuCl₂ را جدا کردیم و آن را به نمونه‌های حاوی ۵ میکرولیتر سرم بیماران اضافه کردیم تا غلظت نهایی CuCl₂ حدود ۲ میلی مولار باشد.

۴- نمونه‌های سرم انسانی را به مدت ۲۴ ساعت در oven با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه کردیم و سطوح اکسیداسیون را با روش TBARS تعیین شد.

۵- به تعداد مورد نیاز لوله‌های شیشه‌ای برای تعداد نمونه‌های مورد تجزیه و تحلیل برداشتیم و سپس ۲۵ میکرولیتر از هر نمونه آماده شده به هر لوله شیشه‌ای اضافه کردیم.

۶- ۵۰ میکرولیتر ۸.۱% SDS را به هر نمونه و استاندارد اضافه کرده و به آرامی لوله شیشه‌ای را به صورت دورانی چرخانده تا نمونه مخلوط شود.

۷- ۳۷۵ ماکرولیتر از بافر ۳/۵ مولار استات سدیم (pH = 4) را به هر نمونه و استاندارد اضافه کردیم.

^۹ TBARS

تجهيز آزماء، ايران) بر اساس دستورالعمل سازنده انجام شد (۲۷).

در نهايیت برای بررسی كیفیت، خلوص و غلظت RNA استخراج شده، OD نمونه به وسیله نانودراب™ Thermo Scientific™ 2000/2000c (آمریکا) نسبت جذب نوری در طول موجهای ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر و ۲۶۰ به ۲۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای سنتز cDNA يكسان‌سازی RNA برای آنها انجام شد. سپس سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA ترانس کریپتاز معکوس (شرکت يكتا تجهيز آزماء، ايران) بر اساس پروتکل شرکت انجام شد. در این تحقیق، ژن NOX2 به عنوان ژن هدف برای ارزیابی میزان بیان و GAPDH به عنوان ژن رفرنس و کنترل داخلی انتخاب شد.

سکانس ژن‌های مورد نظر با بررسی مقاله‌های مختلف انتخاب و توسط Primer - BLAST (NCBI)، نرمافزار 7 Gene Runner بررسی و تأیید شد و برای ساخت به شرکت (ژن فناوران، ایران) سفارش داده شدند.

انجام واکنش Real-time PCR

حجم هر واکنش Real - time PCR، ۱۰ میکرولیتر در نظر گرفته شد که حاوی ۵ میکرولیتر SYBR Green Master mix 2X (امپلی کون، دانمارک)، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمراهای Forward و Reverse cDNA ۱ میکرولیتر بود. در ذیل به برنامه دمایی مورد استفاده اشاره شده است:

جداسازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و تکثیر در ۴۵ چرخه که شامل جداسازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ ثانیه و مرحله اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۵ ثانیه و مرحله گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۲۵ ثانیه و دمای ۷۰-۹۵ برای به دست آمدن منحنی ذوب. در هر آزمایش، به همراه ژن NOX2 کنترل داخلی نیز برای بررسی صحت کار و نرمال کردن واکنش بررسی شد. برای بررسی عدم آسودگی احتمالی از کنترل منفی، استفاده شد. در نهايیت نمونه‌ها در دستگاه LightCycler® 96 (Roche) قرار گرفتند. برای افزایش دقت، هر نمونه به صورت دو بار تکرار بررسی شد.

تحلیل آماری:

تحلیل یافته‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار SPSS Version 27 انجام شد. برای سنجش تفاوت در میزان متغیرهای بیوشیمیایی و التهابی بین گروه مداخله و دارونما از آنجا که شرایط نرمال بودن در داده‌ها برقرار نبود، از آزمون من- ویتنی استفاده شد که جایگزین ناپارامتریک آزمون تی مستقل شد. نرمال بودن داده‌ها در گروه‌های مداخله با استفاده از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف بررسی شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها از آزمون t و در صورت عدم پیروی داده‌ها از توزیع نرمال، از آزمون ناپارامتری من- ویتنی استفاده کردیم. برای سنجش تفاوت در میزان تغییرات بیان ژن از نرم‌افزار Graphpad Prism 8 و آزمون آزمون t -test و One way anova استفاده شد.

یافته‌ها

یافته‌های انتخاب و تعیین بیماران:

در مجموع ۴۹ بیمار فرم رضایت‌نامه را امضا کردند و وارد مطالعه شدند. در ادامه مطالعه ۱۱ بیمار به دلایلی مانند عدم مراجعت حضوری به بیمارستان یا مطلب برای بررسی‌های بعد از پیوند، عدم سکونت در تهران، امکان نمونه‌گیری از آنها وجود نداشت و تعدادی از بیماران نیز با وجود اطلاع کامل از روند انجام طرح و اضافی رضایت از ادامه همکاری و خوردن قرص در حین مطالعه انصراف دادند. در نهایت ۳۸ بیمار در مطالعه باقی ماندند و سه ماه بعد از پیوند بررسی شدند.

یافته‌های سنجش روی و مس:

بر اساس سنجش سرمی روی و مس مشخص شد که میزان روی سرمی بعد از مصرف مکمل روی در بیماران، به طور معناداری افزایش یافته بود ($P-value = 0.006$). اما در گروه دارونما این اختلاف معنادار نبود ($P-value = 0.092$). همچنین مشخص شد بین میزان مس سرمی قبل و بعد از مصرف روی یا دارونما، اختلاف معناداری وجود نداشت ($P-value = 0.067$) و ($P-value = 0.083$).

-۸ ۳۷۵ ماکرولیتر از محلول آبی تیوباربیتوئیک اسید $pH = 4$ ٪/٪ را به هر نمونه و استاندارد اضافه کردیم.

-۹ با افزودن ۱۷۵ میکرولیتر آب DI، حجم نهایی را برای هر نمونه و استاندارد به یک میلی‌لیتر رساندیم.

-۱۰ هر لوله شیشه‌ای را محکم بسته و در یک بلوک حرارتی تنظیم شده روی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت انکوبه کردیم.

-۱۱ لوله‌های شیشه‌ای را از بلوک حرارتی خارج کردیم و به مدت ۳۰ دقیقه روی یخ قرار دادیم.

-۱۲ نمونه‌ها و استانداردها را در ۱۵۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ کردیم. پس از سانتریفیوژ، لوله‌های شیشه‌ای حاوی نمونه‌ها و استانداردها را در RT نگه داشتیم.

-۱۳ بلافضله پس از سانتریفیوژ، ۱۵۰ میکرولیتر از مایع رویی را از هر لوله جدا کرده و در یک چاه جداگانه از یک صفحه ۹۶ چاهی قرار دادیم.

-۱۴ خوانش جذب در ۵۳۲ نانومتر.

-۱۵ به کمک رسم منحنی استاندارد غلظت‌های آنزیمی تعیین شد (۲۸).

بررسی سطوح نیتریت با روش گریس Griess

در واکنش گریس، برای تشکیل رنگ دیازو، نیتریت استفاده می‌شند، در حالی که سرم و پلاسمما اغلب حاوی نیترات‌اند. از این رو، برای سنجش NO_x ابتدا باید نیترات به نیتریت توسط بافر مخصوص گریس احیا شود.

برای تهیه منحنی استاندارد از سدیم نیتریت (NaNO_2) استفاده شد. به این ترتیب که نخست یک استوک ۱۰ میلی‌مولار از سدیم نیتریت در آب دیونیزه تهیه شد و با روش رقت سازی سریالی ۷ سری غلظت از ۱۶۰ تا ۵ میکرومولار تهیه شد.

در آخر در چاهک‌ها مقدار ۵۰ ماکرولیتر سرم و استاندارد ریخته و روی هر کدام ۵۰ ماکرولیتر از محلول گریس ریختیم و ۱۵ دقیقه در تاریکی گذاشته شد و بعد در ۵۴۰ نانومتر خوانده شد (۲۹).

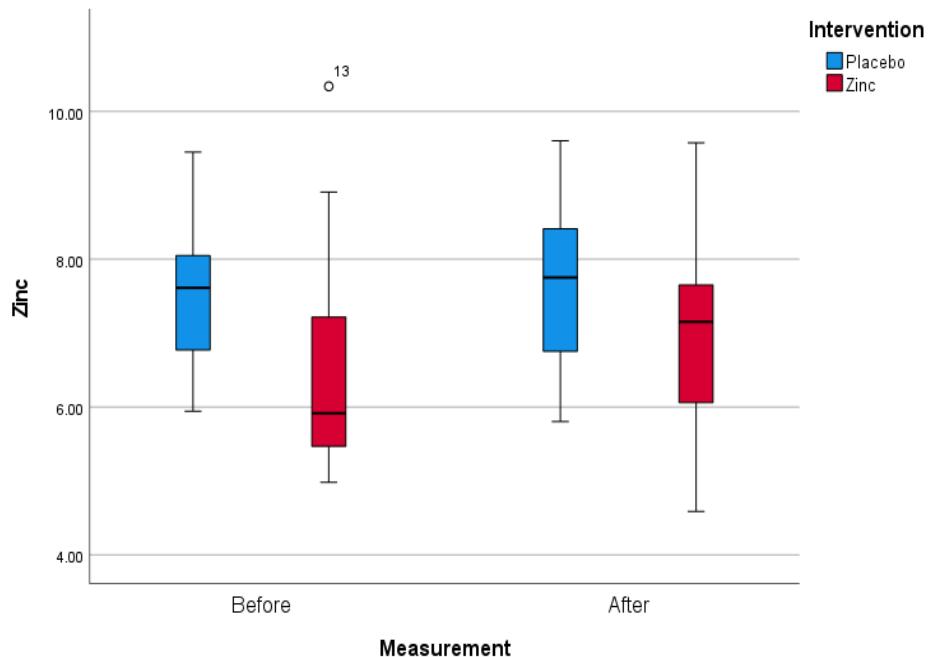
یافته‌های بررسی میزان روی دریافتی بیماران از طریق پرسشنامه ثبت خوراک

بر اساس آنالیز پرسشنامه‌های ثبت خوراک، میانگین زینک (روی) دریافتی بیماران از طریق خوراک قبل از مداخله در گروه روی (۶/۵ میلی‌گرم) و دارونما (۷/۳۵ میلی‌گرم) و بعد از مداخله در گروه روی (۶/۹۹ میلی‌گرم) و دارونما (۷/۴۶ میلی‌گرم) بوده است.

برای سنجش تفاوت در میزان روی قبل از مداخله از آزمون من-ویتنی استفاده شده است. نتیجه این آزمون حاکی از آن بود که شواهد قابل قبولی از تفاوت در میانه میزان روی قبل از مداخله بین دو گروه مورد مطالعه وجود دارد ($P\text{-value} = 0/01$). گروه دارونما روی بیشتری داشته و میزان تفاوت برآورد شده بین میانه دو گروه برابر شد: $1/236$ (فاصله اطمینان ۹۵٪: $2/032$ ، $0/035$) (نمودار ۱).

یافته‌های پرسشنامه ثبت خوراک سه روزه:

بر اساس میزان دریافت درشت مغذی‌ها شامل؛ کربوهیدرات، پروتئین، چربی ثبت شده در پرسشنامه‌های ثبت خوراک متوسط کالری روزانه بیماران هر دو گروه محاسبه شد. همچنین میزان دریافت ریزمغذی‌ها شامل؛ مواد معدنی (آهن، کلسیم، فسفات، مس، منگنز، منیزیم، سدیم، پتاسیم، ید، روی، فولات، سلنیوم)، ویتامین‌های محلول در چربی (D، E، A، K) ویتامین‌های محلول در آب (گروه B، C) در دو گروه روی و دارونما قبل و بعد از مداخله ارزیابی شد. حتی میزان فیر محلول و غیر محلول، انواع قندهای (لاکتوز، فروکتوز) و چربی‌ها (کلسترول) و پروتئین‌ها (تریپتوفان، تیروزین، آرژنین، آلانین، گلوتامین، پرولین)، لاکتوز، به تفکیک بر اساس رژیم غذایی بیمار ارزیابی و گزارش شد. همچنین بر اساس این ارزیابی هیچ یک از بیماران مصرف الكل نداشته‌اند.



نمودار ۱- نمودار جعبه‌ای توزیع مقادیر روی قبل و بعد از مداخله به تفکیک گروه‌های درمانی

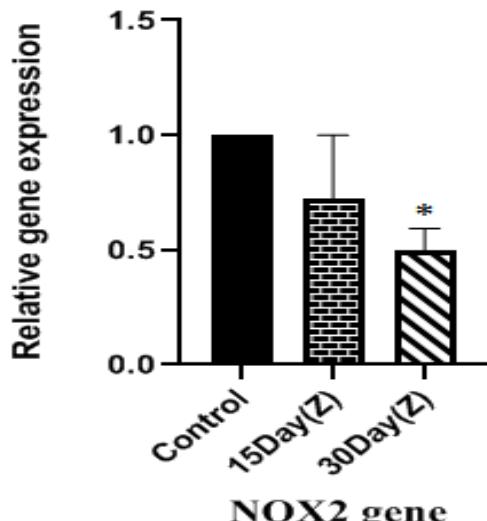
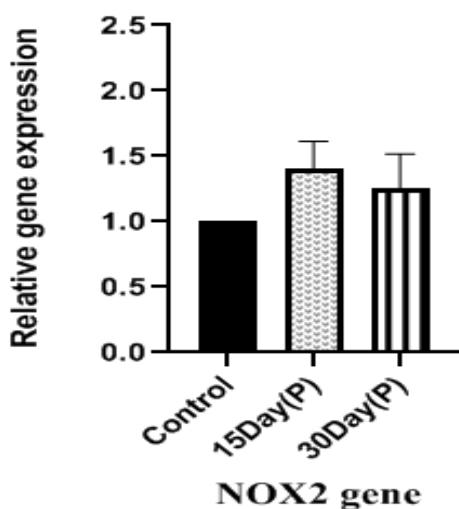
بر اساس مدل ANCOVA در بررسی تفاوت میزان روی پس از مداخله در گروه‌های درمانی، شواهد قابل قبولی از تأثیر روی بین دو گروه درمانی نسبتاً معنادار بود ($P\text{-value} = 0/12$). نمودار ۱).

بر اساس مدل ANCOVA در بررسی تفاوت میزان روی پس از مداخله در گروه‌های درمانی، شواهد قابل قبولی از تأثیر روی قبل از مداخله به عنوان متغیر مخدوش‌کننده یافت نشد

در گروه دارونما این اختلاف در بین روزهای مختلف معنادار نبوده است که نشان می‌دهد این بیماران با مصرف مکمل روی تغییر بیان ژن را پس از ۳۰ روز نشان دادند (نمودار ۲). همچنین نشان داده شده است که بین روزهای ۳۰+ دارونما و روی هم اختلاف معناداری وجود دارد ولی بین روزهای ۱۵+ روی و دارونما اختلاف معناداری وجود ندارد (نمودار ۳).

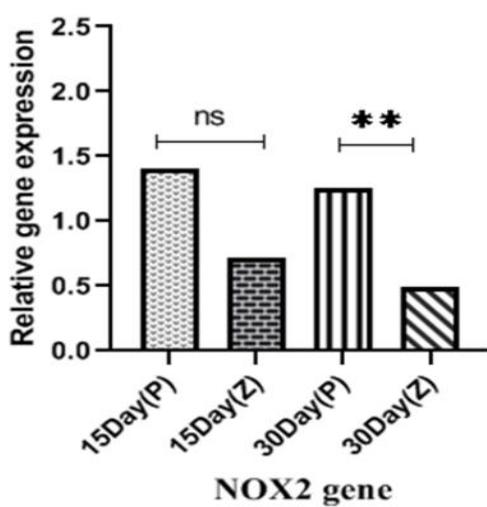
تأثیر مکمل روی بر بیان ژن NOX2:

مکمل "روی" سبب کاهش بیان در ژن NOX2 شد. در نمودار ۲ مشخص است که بیان NOX2 در گروه روی پس از ۳۰ روز مصرف مکمل، کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل پیدا کرده است که نشان می‌دهد این مکمل اثر کاهشی در بیان این ژن داشته است.



نمودار ۲- تغییرات بیان ژن NOX2 گروه دریافت‌کننده زینک و پلاسیبو را نسبت به روز کنترل در روزهای ۱۵ و ۳۰ نشان می‌دهد. Z به معنی گروه زینک و P به معنی گروه دارونما است و علامت ستاره * معناداری را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد ($P < 0.05$).

Unpaired t test data

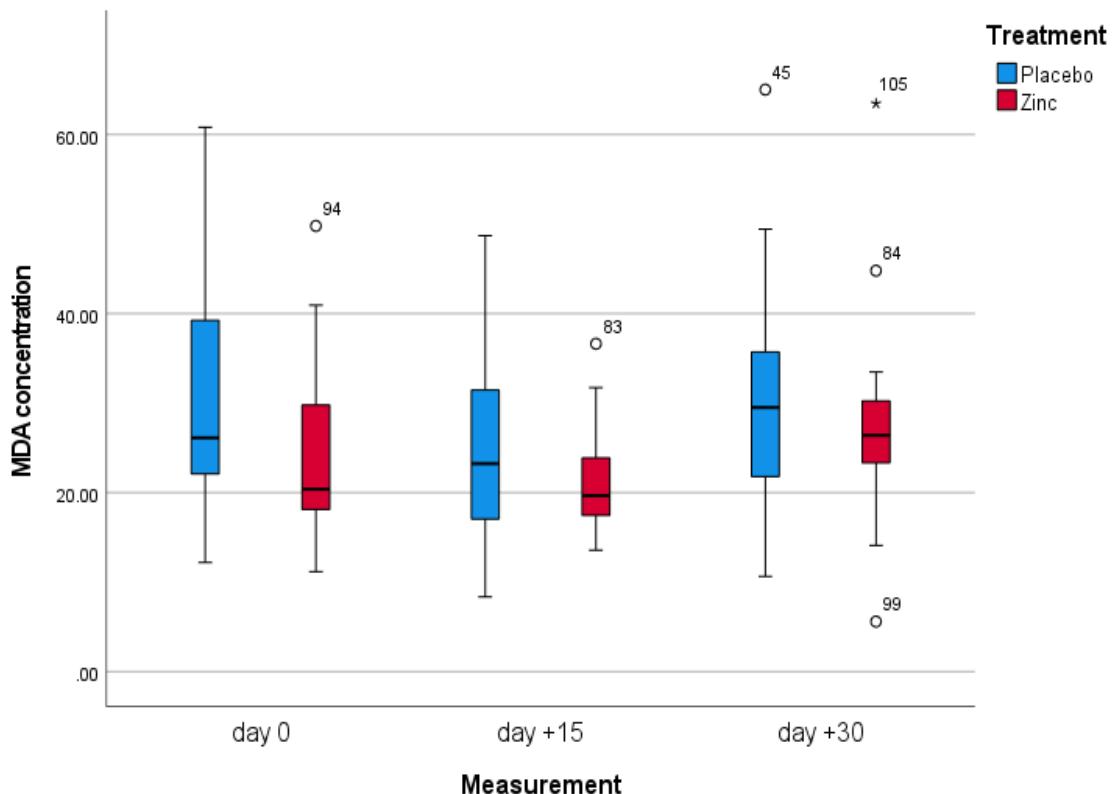


نمودار ۳- مقایسه بیان ژن NOX2 در روزهای ۱۵ و ۳۰ گروه گیرنده روی نسبت به روزهای ۱۵ و ۳۰ گروه گیرنده دارونما با روش آزمون t مستقل. ns به معنی عدم معناداری و علام ستاره ** معناداری را نشان می‌دهد ($P < 0.01$).

$P = 0.075$). در روزهای پانزدهم و سیام پس از پیوند نیز تفاوت قابل ملاحظه‌ای دیده نشد اما میزان MDA گروه دریافت‌کننده روی کمتر از گروه دارونما بود در حالی که در گروه دریافت‌کننده روی سطح کلی MDA پس از ۳۰ روز افزایش پیدا کرده بود اما این تغییر معنادار نبود (نمودار ۴).

تأثیر مکمل "روی" بر تولید MDA در بیماران مالتیپل میلوما:

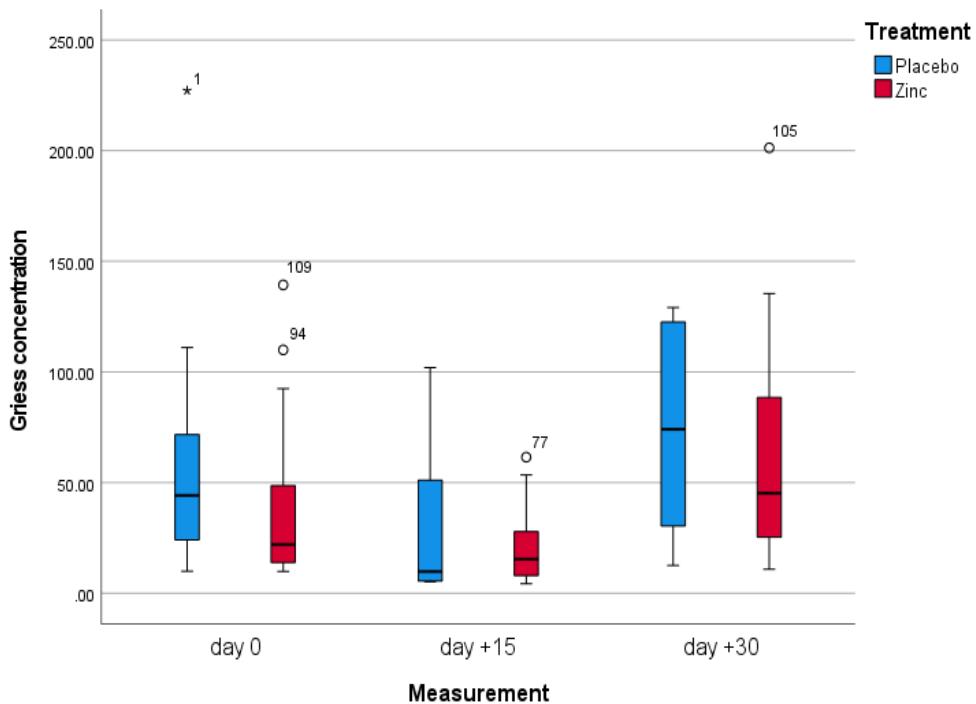
همان‌طور که در شکل پیداست، در روز پیوند میزان MDA گروه دارونما کمی بیشتر از گروه مداخله بهنظر می‌رسد. با این حال شواهد آماری قدرتمندی از این تفاوت وجود نداشت.



نمودار ۴- نمودار نشان‌دهنده میزان MDA در گروه‌های مداخله و دارونما برای سه روز پیوند، پانزدهم و سیام است.

دریافت‌کننده روی سطح کلی گریس پس از ۳۰ روز افزایش پیدا کرده بود اما این تغییر معنادار نبود (نمودار ۵).

تأثیر مکمل روی بر تولید NO در بیماران مالتیپل میلوما: آنالیز آماری یافته‌های حاصل از اندازه‌گیری سطح NO در تست گریس در سرم بیماران MM تحت درمان با مکمل روی یا دارونما نشان داد که در بیماران تحت درمان با مکمل روی، کاهش سطح این متابولیت را در مقایسه با گروه دارونما پس از مدت ۳۰ روز نشان می‌دهد اما هیچ تفاوت معناداری بین دو گروه در روزهای مورد نظر یافت نشد در حالی که در گروه



نمودار ۵- نمودار میزان گریس (Griess) را در روز پیوند، روز پانزدهم و روز سی ام پس پیوند برای دو گروه دریافت‌کننده روی و دارونما نشان می‌دهد.

از گذشت ۳۰ روز مشاهده شد که سطح MDA و گریس در گروه دریافت‌کننده مکمل روی، افزایش پیدا کرده بود. همچنین در بیماران دیابتی افزایش معناداری در سطوح MDA مشاهده شد، در حالی که مکمل روی MDA را کاهش داد اما از نظر آماری معنادار نبود (۳۲). گزارش شده که مکمل منیزیم و روی، در مقایسه با دارونما، به مدت ۱۲ هفته در بین زنان مبتلا به سندروم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) تأثیر معناداری بر سطوح NO, MDA نداشت (۳۳). در مطالعه‌ای دیگری مشاهده شد که افرادی که به مدت ۱۰ هفته مکمل روی دریافت کرده بودند، MDA و hs-CRP را به طور قابل توجهی کاهش دادند اما سطوح GSH و نیتریت کل را بهبود ندادند (۳۴). کاهش MDA در بین بیماران سندروم تخمدان پلی کیستیک به دنبال مصرف ۵۰ میلی‌گرم مکمل روی در روز پس از ۸ هفته نشان داده شده است (۳۵). در جدول زیر به صورت خلاصه نتایج تحقیق ما گزارش شده است. در مطالعه‌ای هم همبستگی

بحث

با توجه به یافته‌های حاصل از این تحقیق به نظر می‌رسد که مصرف مکمل روی در بیماران مالتیپل میلوما (MM) تحت پیوند مغز استخوان اتلولوگ پس از ۳۰ روز کاهش در استرس اکسیداتیو و التهاب را به دنبال داشته است. مطالعه ما نشان داد که مکمل روی به صورت معناداری توانسته بیان ژن NOX2 را پس از ۳۰ روز نسبت به روز پیوند کاهش دهد.

در گزارشی آمده است، کاهش روی با استفاده از TPEN^{۱۰} منجر به کاهش ErbB2 و افزایش آپوپتوز، همراه با افزایش بیان ژن NOX2، افزایش استرس اکسیداتیو و ER شد (۳۰). یافته‌های مطالعات دیگر نشان داده که رونویسی NOX-2 در گروه دچار کمبود "روی" افزایش یافته است (۳۱).

همچنین مطالعه ما نشان داد که مکمل روی به صورت معناداری نتوانسته بود بر دو متابولیت MDA و گریس اثر بگذارد اما پس

^{۱۰} N,N,N',N'-tetrakis (2-pyridylethyl) ethylenediamine

"روی" با اثر عملکردی مفیدی از جمله اثر ضد التهابی و آنتی اکسیدانی شناخته شده است و همچنین نقش مهم آن در عملکرد سیستم ایمنی نیز مشاهده شده است (۴۷). کمبود روی با نقص ایمنی از جمله تغییر پاسخ ایمنی سلولی، سنتر آنتی بادی و تولید سایتوکاین و افزایش حساسیت به بیماری‌های عفونی مرتبط است (۴۸). یافته‌های تحقیق‌ها نشان داده است که مکمل روی نقش مهمی در معکوس کردن این تظاهرات و افزایش کارایی سیستم ایمنی دارد.

"روی" با دخالت در واکنش‌های آنزیمی به عملکرد صحیح سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی کمک می‌کند. علاوه بر این، از سلول‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند (۴۹). بنابراین، حفظ غلاظت کافی "روی" در محفظه‌های سلولی برای عملکرد مناسب سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی ضروری است.

از طرفی، اختلال‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در بسیاری از سرطان‌ها از عوامل مهم التهاب و شکست درمان هستند. به ویژه در سرطان‌های هماتولوژیک به ویژه مالتیپل میلوما (MM)، استرس اکسیداتیو بالایی وجود دارد و حتی پس از پیوند مغز استخوان، عوارض جبران ناپذیری را نشان می‌دهد. تجویز مکمل‌های پیشگیرانه در کنترل و مهار عمل رادیکال‌های اکسیداتیو نقش دارند.

امروزه توجه ویژه‌ای به نقش واکنش‌های التهابی و سیستم ایمنی در آسیب‌رسانی به سلامت انسان معطوف شده است. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر مکمل‌های خوارکی بر بهبود روند درمان بیماران با سابقه MM که تحت پیوند مغز استخوان اتلولوگ قرار

معکوس بین سطوح روی و سطوح MDA پس از مصرف مکمل تشخیص داده شد (۳۶).

با این حال، این اختلاف بین مطالعه‌ها ممکن است به دلیل تفاوت در روش نمونه‌گیری، مدت زمان مطالعه، محدوده سنی، دوز مصرفی روی، ویژگی‌های شرکت‌کنندگان، تفاوت بین گروه‌های مداخله و کنترل، طراحی مقاطع یا طراحی موازی و رژیم غذایی شرکت‌کنندگان باشد.

مالتیپل میلوما یک بدخیمی با عوارض متعدد مانند عفونت‌های مکرر باکتریایی، کم خونی، ضایعات استئولیتیک، نارسایی مغز استخوان و کاهش عملکرد کلیه است. در مراکز پیشرفته پیوند، عمل پیوند مغز استخوان توسط منبع سلول‌های بنیادی خون محیطی انجام می‌شود (۳۷). اکثر بیماران مبتلا به MM که واجد شرایط پیوند هستند تحت این نوع پیوند قرار می‌گیرند. برای پیوند سلول‌های بنیادی، شیمی درمانی برای از بین بردن سلول‌های بیمار و مغز استخوان انجام می‌شود، سپس سلول‌های بنیادی وارد جریان خون می‌شوند و راه خود را به مغز استخوان پیدا می‌کنند، جایی که در حالت ایده‌آل شروع به تولید سلول‌های خونی جدید و سالم می‌کنند. شیمی درمانی و پرتو درمانی با تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و کاهش آنتی اکسیدان‌ها مانند گلوتاتیون (GSH)، آنزیم‌های آنتی اکسیدان و ویتامین‌های آنتی اکسیدانی مانند α -توکوفرول، بتاکاروتون و ویتامین C مرتبط هستند (۱۰). استرس اکسیداتیو با علل و توسعه بدخیمی‌های خونی مرتبط است زیرا گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و رادیکال‌های آزاد در لوكموئنر نقش دارند. شیمی درمانی با دوز بالا که اغلب در درمان سرطان‌ها استفاده می‌شود، معمولاً با سمتی سلولی ناشی از ROS همراه است. بنابراین، استفاده از شیمی درمانی در ترکیب با آنتی اکسیدان‌ها ممکن است پیشرفت بدخیمی‌های خونی را کاهش دهد (۳۸). پیشرفت اخیر در مورد تولید سایتوکاین‌های التهابی ناشی از شیمی درمانی و اثر و پیامدهای شیمی درمانی بر مسیرهای سایتوکاین میزبان و تومور است. سطوح بالاتری از عوامل التهابی مانند سایتوکاین‌ها در بیماران مبتلا به سرطان قبل از شروع هر درمانی (۳۹)، در طول شیمی درمانی

مشاهده کنیم، روز ۳۰ پیگیری بیشتری شد. جدول ۲ میزان شاخص‌ها را بر اساس روزهای مختلف به تفکیک گروه‌های درمانی با میانگین و انحراف معیار و تغییرات آنها نسبت به هم مقایسه کرده است.

گرفته‌اند، است. در مطالعه ما به دلیل اینکه در روز ۱۵ تعدادی از داده‌ها به دلیل عدم دسترسی به بیمار، بستری بودن، التهاب بالا و مقادیر سلول پایین این بیماران به دلیل پیوند مغز استخوان و همین طور به دلیل اینکه تأثیر زینک را به وضوح

جدول ۲- میزان شاخص‌های بررسی شده بر اساس روزهای مختلف به تفکیک گروه‌های درمانی با میانگین و انحراف معیار و تغییرات آنها نسبت به هم.

مورد سنجش	متابولیت‌های مداخله	گروه‌های مداخله	روزهای سنجش و		میانگین و انحراف	میانگین و انحراف	میانگین و انحراف	میانگین و انحراف
			بدیرش (روز کنترل)	بس از پیوند				
MDA	دارونما	دارونما	۳۴/۷۱ ± ۶/۵۵	۲۵/۰۷ ± ۴/۴۰	۹/۶۴ ± ۵/۲۲	۳۰/۶۰ ± ۳/۱۴	۰/۹۴ ± ۴/۰۴	
	روی	روی	۲۳/۸۹ ± ۲/۷۸	۲۱/۶۵ ± ۲/۱۲	۲/۲۳ ± ۲/۷۴	۲۷/۵۵ ± ۲/۸۸	۲/۸۱ ± ۳/۴۷	
Griess	دارونما	دارونما	۶۰/۴۶ ± ۲۵/۱۲	۳۰ ± ۱۲/۸۶	۳۰/۴۶ ± ۱۹/۲۱	۷۷/۳۸ ± ۱۰/۳۶	۱۷/۰۵ ± ۱۳/۳۵	
	روی	روی	۳۱/۵۵ ± ۱۱/۲۱	۲۳/۵۳ ± ۵/۶۳	۸/۰۲ ± ۱۳/۴۲	۶۳/۳۲ ± ۱۱/۹۴	۲۳/۶۴ ± ۱۱/۸۵	
ژن NOX2	دارونما	دارونما	۰/۹۸۲ ± ۰/۰۲۶	۱/۳۹۱ ± ۰/۲۱	۰/۰۹ ± ۰/۴۰۹	۱/۲۳۷ ± ۰/۰۵۰۴	۰/۲۵۵ ± ۰/۳۴	
	روی	روی	۰/۹۸۳ ± ۰/۰۲۴	۰/۷۲۱ ± ۰/۴۰۱	۰/۲۶۲ ± ۰/۲۷۹	۰/۴۹۶ ± ۰/۱۹۷	۰/۴۸۷ ± ۰/۱۳	

نقش روی در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به طور گسترده بررسی شده است. مطالعه‌ها نقش آن را در تنظیم گلوتاتیون پراکسیداز و در بیان متالوتیونین و همچنین نقش آن به عنوان یک عامل کمکی برای سوپراکسید دیسموتاز برجسته کرده‌اند. علاوه بر این، روی با آهن و مس در غشاء سلولی رقابت می‌کند، آنزیم NADPH - اکسیداز را مهار می‌کند و التهاب مزمن و هیپرگلیسمی را کاهش می‌دهد (۵۲). روی یکی از اجزای ساختاری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز است که در سیتوپلاسم سلول‌ها وجود دارد. سوپراکسید دیسموتاز دارای یک مرکز فعال با یک یون مس و یک یون روی است. این آنزیم تبدیل دو رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی را افزایش می‌دهد و سمیت ROS را کاهش می‌دهد (۵۳). مکانیسم دیگری که روی آن به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند، تأثیر بر بیان گلوتامات سیستئین لیگاز است که آنزیم

با این حال، این اختلاف بین مطالعه‌های ممکن است به دلیل تفاوت در روش نمونه‌گیری، مدت زمان مطالعه، محدوده سنی، دوز مصرفی روی، ویژگی‌های شرکت کنندگان، تفاوت بین گروه‌های مداخله و کنترل، طراحی متقاطع یا طراحی موازی و رژیم غذایی شرکت کنندگان باشد.

همان‌طور که قبلاً تاکید شد، اگر رادیکال‌های آزاد و اکسیدان‌ها بیش از حد نرمال باشند، پدیده‌ای به نام استرس اکسیداتیو ایجاد می‌کنند. این یک فرآیند مضر است که می‌تواند بر چندین ساختار سلولی مانند غشاء‌ها، لیپیدهای پروتئین‌ها، لیپوپروتئین‌ها و دی‌اکسی ریبونوکلئیک اسید (DNA) تأثیر منفی بگذارد (۵۱). اگر به شدت کنترل نشود، استرس اکسیداتیو می‌تواند عامل ایجاد چندین بیماری، هم مزمن و هم دژنراتیو و همچنین تسريع روند پیری بدن و ایجاد آسیب شناسی حاد (مانند سکته) باشد.

این تحقیق با توجه به شرایط بیماران و لحاظ بودن تمامی شرایط متداول‌زیک و پژوهشی کاری سخت و دشوار بوده است. در این مطالعه تأثیر یک داروی ارزان و در دسترس بیماران بررسی شده است که برای اولین بار هم در کل دنیا انجام شده است و نتایج آن مستقیماً در بالین قابل استفاده است.

نتیجه‌گیری

تا امروز مطالعه‌ای در مورد مکمل روی و تأثیر آن در کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب در بیماران تحت پیوند مغز استخوان اتوЛОگ انجام نشده بود. در مطالعه ما مشاهده شد که این مکمل معدنی می‌تواند به کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب کمک کند که در ادامه می‌تواند از بیماری‌های التهابی، بیماری‌های عفونی و سایر مشکلات و حتی عود دوباره جلوگیری کند. می‌توان پیشنهاد کرد که این مکمل سبب بهبودی سریع‌تر این بیماران شده و پیامدهای ناخوشایندی که گاه شدیدتر از عامل اصلی بیماری، سلامت فرد را مورد خطر قرار میدهد را کاهش دهد. از این مکمل می‌توان در آینده به عنوان خط درمانی احتمالی نیز استفاده کرد، اما قطعاً تحقیق‌های بیشتر و گستردگرتری مورد نیاز است تا این عملکرد ثابت شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه آقای کسری جهان خانی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته ایمونولوژی از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بود.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بررسی و کد اخلاقی بهشتی IR.SBMU.MSP.REC.1400.728 ثبت شده است.

تعارض منافع

نویسنده‌گان، تعارض منافعی را گزارش نکرده‌اند.

محدود‌کننده سرعت سنتز گلوتاتیون است و اثر دو برابری روی برای خنثی کردن رادیکال‌های آزاد به طور مستقیم توسط گلوتاتیون یا غیر مستقیم به عنوان کوفاکتور گلوتاتیون پراکسیداز دارد (۵۴). توانایی روی برای رقابت با آهن و مس در محلهای اتصال موجود در غشاء سلولی اهمیت دارد. یون‌های آهن و مس می‌توانند تولید رادیکال‌ها از پراکسیدهای لیپیدی را کاتالیز کنند. به این ترتیب، جایگزینی آهن و مس با روی می‌تواند از تشکیل رادیکال‌های بسیار واکنش‌پذیر جلوگیری کند زیرا روی از نظر کاتالیزوری بی اثر است (۵۵). روی همچنین با عمل به عنوان یک ماده مغذی ضد التهابی، استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد، مطالعه‌ها نشان می‌دهد که روی، رونویسی NF-kB را از طریق پروتئین ضد التهابی A20 و مسیر سیگنال‌دهی گیرنده فعال شده توسط رسپتور پراکسی زوم پرولیفراتور α (PPAR- α) تنظیم می‌کند (۵۶).

در محدودیت‌های این تحقیق می‌توانیم به نمونه‌گیری این پژوهش بالینی به دلیل همزمانی با شیوع همه‌گیری کووید-۱۹، عدم همکاری بعضی از بیماران در روند پژوهش، پرخطر بودن روند درمانی پیوند سلول‌های بنیادی و احتمال فوت از بزرگ‌ترین معضلات انجام آن بوده است. از دست رفتن بعضی از داده‌ها به دلیل این که بسیاری از بیماران ساکن شهرستان بودند که بر خلاف توصیه پزشک معالج برای اقامت تا ۳۰ روز بعد از پیوند در تهران، زودتر از این زمان از تهران به شهر محل سکونت عزیمت نمودند و برای پیگیری‌های درمان به بیمارستان مراجعه نکردند و از آنجا که طبق اخلاق پژوهش هیچ هزینه مالی و حتی زمانی به بیماران تحمیل نشد از نمونه‌گیری این بیماران صرف نظر شد. با وجود تمام محدودیت‌های موجود، نمونه‌گیری این پژوهش با رعایت کامل موازین اخلاقی و در طی دو سال انجام شد. همچنین مقادیر اولیه شاخص‌ها مانند MDA را بهتر بود در شروع کار همسان می‌کردیم و بعد به گروه‌ها تقسیم می‌کردیم. مطالعه حاضر، یک کارآزمایی بالینی - تصادفی کنترل شده با دارونوما است. در این مطالعه بیماران با سابقه سرطان خون انتخاب شده‌اند که با رضایت وارد مطالعه شده‌اند. از طرفی انجام

References

1. Sato H, Shibata M, Shimizu T, Shibata S, Toriumi H, Ebine T, et al. Differential cellular localization of antioxidant enzymes in the trigeminal ganglion. *Neuroscience*. 2013 Sep;248:345–58.
2. Navarro-Yepes J, Zavala-Flores L, Anandhan A, Wang F, Skotak M, Chandra N, et al. Antioxidant gene therapy against neuronal cell death. *Pharmacol Ther*. 2014 May;142(2):206–30.
3. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochim Biophys Acta*. 2013 May;1830(5):3217–66.
4. Kiss S, Gede N, Soós A, Hegyi P, Nagy B, Imrei M, et al. Efficacy of first-line treatment options in transplant-ineligible multiple myeloma: A network meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2021 Dec;168:103504.
5. Mateos M-V, Landgren O. MGUS and Smoldering Multiple Myeloma: Diagnosis and Epidemiology. *Cancer Treat Res*. 2016;169:3–12.
6. Waxman AJ, Mink PJ, Devesa SS, Anderson WF, Weiss BM, Kristinsson SY, et al. Racial disparities in incidence and outcome in multiple myeloma: a population-based study. *Blood*. 2010 Dec;116(25):5501–6.
7. Janbabai G, Yaghoubi Ashrafi M, Mousavi RS, Shekariz R, Eslami Jouybari M, Zaboli E, et al. Epidemiology of hematopoietic cancers in north of Iran: results of Mazandaran population based cancer registry. *WCRJ*. 2019;6:e1270.
8. Björkstrand BB, Ljungman P, Svensson H, Hermans J, Alegre A, Apperley J, et al. Allogeneic bone marrow transplantation versus autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: a retrospective case-matched study from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood*. 1996 Dec;88(12):4711–8.
9. Devarakonda S, Efebera Y, Sharma N. Role of Stem Cell Transplantation in Multiple Myeloma. *Cancers (Basel)*. 2021 Feb;13(4).
10. Sabuncuoğlu S, Kuşkonmaz B, Uckun Çetinkaya D, Özgüneş H. Evaluation of oxidative and antioxidative parameters in pediatric hematopoietic SCT patients. *Bone Marrow Transplant* [Internet]. 2012;47(5):651–6. Available from: <https://doi.org/10.1038/bmt.2011.145>
11. Pazirandeh S, Burns DL, Griffin JJ. Overview of dietary trace minerals. *UpToDate*. 2012;
12. Duan X, He K, Li J, Cheng M, Song H, Liu J, et al. Tumor associated macrophages deliver iron to tumor cells via Lcn2. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*. 2018;10(2):105–14.
13. Bai Y, Wang G, Fu W, Lu Y, Wei W, Chen W, et al. Circulating essential metals and lung cancer: Risk assessment and potential molecular effects. *Environ Int*. 2019 Jun;127:685–93.
14. Stepien M, Jenab M, Freisling H, Becker N-P, Czuban M, Tjønneland A, et al. Pre-diagnostic copper and zinc biomarkers and colorectal cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. *Carcinogenesis*. 2017 Jul;38(7):699–707.
15. Stepien M, Hughes DJ, Hybsier S, Bamia C, Tjønneland A, Overvad K, et al. Circulating copper and zinc levels and risk of hepatobiliary cancers in Europeans. *Br J Cancer* [Internet]. 2017;116(5):688–96. Available from: <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.1>
16. Hernandes MS, D'Avila JC, Trevelin SC, Reis PA, Kinjo ER, Lopes LR, et al. The role of Nox2-derived ROS in the development of cognitive impairment after sepsis. *J Neuroinflammation* [Internet]. 2014;11(1):36. Available from: <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-36>
17. Abais-Battad JM, Lund H, Dasinger JH, Fehrenbach DJ, Cowley AWJ, Mattson DL. NOX2-derived reactive oxygen species in immune cells exacerbates salt-sensitive hypertension. *Free Radic Biol Med*. 2020 Jan;146:333–9.
18. Costa ED, Rezende BA, Cortes SF, Lemos VS. Neuronal Nitric Oxide Synthase in Vascular Physiology and Diseases [Internet]. Vol. 7, *Frontiers in Physiology* . 2016. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2016.00206>
19. Khawla O, Naimi D, Mentaverri R, Objois T, Nadiaboudessa N, Marolleau J-P. Quantification of Nitric oxide in Multiple Myeloma Algerian Patients Using R&D and Arbor Assays Kits. *Biomed Pharmacol J*. 2018 Jun 28;11:1051–9.
20. Zhang Y, Luan Q, Jiang J, Li Y. Prediction and Utilization of Malondialdehyde in Exotic Pine Under Drought Stress Using Near-Infrared Spectroscopy [Internet]. Vol. 12, *Frontiers in Plant Science* . 2021. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.735275>
21. Mehdi WA, Zainulabdeen JA, Mehde AA. Investigation of the antioxidant status in multiple

- myeloma patients: effects of therapy. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(6):3663–7.
22. The 48(th) Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation: Quality Management Group - Poster Session (P607-P610). *Bone Marrow Transplant.* 2022 Nov;57(Suppl 1):465–7.
23. Rambod M, Pasyar N, Ramzi M. The effect of zinc sulfate on prevention, incidence, and severity of mucositis in leukemia patients undergoing chemotherapy. *Eur J Oncol Nurs [Internet].* 2018;33:14–21. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1462388918300176>
24. Iovino L, Mazziotta F, Carulli G, Guerrini F, Morganti R, Mazzotti V, et al. High-dose zinc oral supplementation after stem cell transplantation causes an increase of TREC^s and CD4+ naïve lymphocytes and prevents TTV reactivation. *Leuk Res.* 2018 Jul;70:20–4.
25. Masri IM. Spectrophotometric Determination of Trace Copper in Dental–Unit Waste Water Using the Reagent (3, 5-Dibromo-2-Pyridylazo)-N-Ethyl-N-(3-Sulphopropyl) Aniline (3, 5-Di-Br-PAESA). *Sch J Appl Med Sci.* 2014;2(2D):870–2.
26. Wang J, Niu Y, Zhang C, Chen Y. A micro-plate colorimetric assay for rapid determination of trace zinc in animal feed, pet food and drinking water by ion masking and statistical partitioning correction. *Food Chem.* 2018 Apr;245:337–45.
27. Cheshmeh S, Ghayyem M, Khamooshi F, Heidarzadeh-Esfahani N, Rahmani N, Hojati N, et al. Green cardamom plus low-calorie diet can decrease the expression of inflammatory genes among obese women with polycystic ovary syndrome: a double-blind randomized clinical trial. *Eat Weight Disord - Stud Anorexia, Bulim Obes [Internet].* 2022;27(2):821–30. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40519-021-01223-3>
28. Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Anal Biochem [Internet].* 2017;524:13–30. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269716303578>
29. Hoysrijan B, Sirikulkajorn A. Colorimetric and fluorogenic detection of nitrite anion in water and food based on Griess reaction of fluorene derivatives. *J Food Compos Anal.* 2023;117:105123.
30. Bodiga VL, Vemuri PK, Nimmagadda G, Bodiga S. Zinc-dependent changes in oxidative and endoplasmic reticulum stress during cardiomyocyte hypoxia/reoxygenation. *Biol Chem [Internet].* 2020;401(11):1257–71. Available from: <https://doi.org/10.1515/hsz-2020-0167>
31. Biaggio VS, Pérez Chaca M V, Valdés SR, Gómez NN, Giménez MS. Alteration in the expression of inflammatory parameters as a result of oxidative stress produced by moderate zinc deficiency in rat lung. *Exp Lung Res.* 2010 Feb;36(1):31–44.
32. Maremenda KP, Khan S, Jena GB. Role of Zinc Supplementation in Testicular and Epididymal Damages in Diabetic Rat: Involvement of Nrf2, SOD1, and GPX5. *Biol Trace Elem Res.* 2016 Oct;173(2):452–64.
33. Maktabi M, Jamilian M, Asemi Z. Magnesium-Zinc-Calcium-Vitamin D Co-supplementation Improves Hormonal Profiles, Biomarkers of Inflammation and Oxidative Stress in Women with Polycystic Ovary Syndrome: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Biol Trace Elem Res.* 2018 Mar;182(1):21–8.
34. Mesdaghinia E, Naderi F, Bahmani F, Chamani M, Ghaderi A, Asemi Z. The effects of zinc supplementation on clinical response and metabolic profiles in pregnant women at risk for intrauterine growth restriction: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Matern neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2021 May;34(9):1382–8.
35. Jamilian M, Foroozanfar F, Bahmani F, Talaee R, Monavari M, Asemi Z. Effects of Zinc Supplementation on Endocrine Outcomes in Women with Polycystic Ovary Syndrome: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Biol Trace Elem Res.* 2016 Apr;170(2):271–8.
36. Saad-Hussein A, Ibrahim KS, Abdalla MS, El-Mezayen HA, Osman NFA. Effects of zinc supplementation on oxidant/antioxidant and lipids status of pesticides sprayers. *J Complement Integr Med [Internet].* 2020;17(1). Available from: <https://doi.org/10.1515/jcim-2019-0001>
37. Santosa D, Suharti C, Dharmana E. Autologous Bone Marrow Transplant in Multiple Myeloma Patient With Bone Marrow Hematopoietic Stem Cell. *Acta Med Indones.* 2020 Oct;52(4):383–7.
38. Zhang J, Lei W, Chen X, Wang S, Qian W. Oxidative stress response induced by chemotherapy in leukemia treatment. *Mol Clin Oncol.* 2018

Mar;8(3):391–9.

39. Patel SK, Wong AL, Wong FL, Breen EC, Hurria A, Smith M, et al. Inflammatory Biomarkers, Comorbidity, and Neurocognition in Women With Newly Diagnosed Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2015 Aug;107(8).
40. Lyon DE, Cohen R, Chen H, Kelly DL, McCain NL, Starkweather A, et al. Relationship of systemic cytokine concentrations to cognitive function over two years in women with early stage breast cancer. *J Neuroimmunol.* 2016;301:74–82.
41. Cheung YT, Ng T, Shwe M, Ho HK, Foo KM, Cham MT, et al. Association of proinflammatory cytokines and chemotherapy-associated cognitive impairment in breast cancer patients: a multi-centered, prospective, cohort study. *Ann Oncol.* 2015;26(7):1446–51.
42. Briones TL, Woods J. Dysregulation in myelination mediated by persistent neuroinflammation: possible mechanisms in chemotherapy-related cognitive impairment. *Brain Behav Immun.* 2014;35:23–32.
43. Pomykala KL, Ganz PA, Bower JE, Kwan L, Castellon SA, Mallam S, et al. The association between pro-inflammatory cytokines, regional cerebral metabolism, and cognitive complaints following adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Brain Imaging Behav.* 2013;7:511–23.
44. Ganz PA, Bower JE, Kwan L, Castellon SA, Silverman DHS, Geist C, et al. Does tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) play a role in post-chemotherapy cerebral dysfunction? *Brain Behav Immun.* 2013;30:S99–108.
45. Kesler S, Janelsins M, Koovakkattu D, Palesh O, Mustian K, Morrow G, et al. Reduced hippocampal volume and verbal memory performance associated with interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in chemotherapy-treated breast cancer survivors. *Brain Behav Immun.* 2013;30:S109–16.
46. Vermot A, Petit-Härtlein I, Smith SME, Fieschi F. NADPH Oxidases (NOX): An Overview from Discovery, Molecular Mechanisms to Physiology and Pathology. Vol. 10, *Antioxidants*. 2021.
47. Wessels I, Maywald M, Rink L. Zinc as a Gatekeeper of Immune Function. Vol. 9, *Nutrients*. 2017.
48. Wessels I, Haase H, Engelhardt G, Rink L, Uciechowski P. Zinc deficiency induces production of the proinflammatory cytokines IL-1 β and TNF α in

- promyeloid cells via epigenetic and redox-dependent mechanisms. *J Nutr Biochem.* 2013 Jan;24(1):289–97.
49. Chasapis CT, Loutsidou AC, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME. Zinc and human health: an update. *Arch Toxicol [Internet].* 2012;86(4):521–34. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0775-1>
 50. Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas EN, Lakshminarasiah U, et al. Antioxidants and human diseases. *Clin Chim Acta.* 2014 Sep;436:332–47.
 51. Wu JQ, Kosten TR, Zhang XY. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2013 Oct;46:200–6.
 52. Cruz KJC, de Oliveira ARS, do Nascimento Marreiro D. Antioxidant role of zinc in diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2015;6(2):333.
 53. Cruz JBF, Soares HF. Uma revisão sobre o zinco. *Ensaios e Ciência Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde.* 2011;15(1):207–22.
 54. Eide DJ. The oxidative stress of zinc deficiency. *Metalomics.* 2011;3(11):1124–9.
 55. Oteiza PI. Zinc and the modulation of redox homeostasis. *Free Radic Biol Med.* 2012;53(9):1748–59.
 56. Prasad AS, Bao B, Beck FWJ, Sarkar FH. Zinc-suppressed inflammatory cytokines by induction of A20-mediated inhibition of nuclear factor- κ B. *Nutrition.* 2011;27(7–8):816–23.