دانشگاه علوم پزشکی مشهد
معاونت پژوهش و فناوری

شناسنامه طرح پژوهشی کد ۹۹۱۲۲۹

عنوان پژوهش: (حداکثر ۲ خط) بررسی پتانسیل درمانی آب محتوی هیدروژن در سرطان کولورکتال

عنوان پژوهش به انگلیسی: (حداکثر ۲ خط) Evalaution of therapeutic effect of H2-containig water in colorectal cancer

پژوهشگر طرف قرارداد: مجید خزاعی

سایر پژوهشگران

نام خانوادگی، نام	تخصص/دانشجو (رشته/مقطع)	پست الکترونیکی	کد ملی	
فرشته اصغرزاده	فیزیولوژی / دکترا (Ph.D)	asgharzadehf961@mums.ac.ir	۰۹۲۱۵۰۰۵۰۵	

ایمان محمدی یکتا	پزشکی عمومی / دکترای حرفه ای	iman.mo.a6919@gmail.com	۱۰۵۰۷۳۳۲۱۵	

امیر آوان	ژنتیک انسانی / دکترا (Ph.D.)	AvanA@mums.ac.ir	۰۹۴۶۰۳۳۷۹۱	
سید مهدی حسنیان مهر	بیوشیمی بالینی / دکترا (Ph.D.)	hasanianmehrm@mums.ac.ir	۰۹۴۲۵۸۱۳۳۴	
سیده الناز نظری	فیزیولوژی / دکترا (Ph.D.)	nazarin971@mums.ac.ir	۴۰۲۰۰۴۱۷۴۱	

اگر طرح پیشنهادی پایان نامه است مقطع آنرا ذکر کنید(کارشناسی/ کارشناسی ارشد/ دکترا حرفه ای ...): دکترای حرفه ای

مشخصات طرح

چکیده طرح: سرطانهای کولورکتال شایع ترین بـدخیمی دسـتگاه گـوارش و مهمترین علل مرگ و میر مرتبط با سرطان در جهان است (۱). این بیماری در ایران چهارمین دلیل مرگ و میر می باشد. بر اساس گزارشات در هر ۹ دقیقه یک مرگ به دلیل سرطان روده بزرگ اتفاق می افتد (۲). درمان های اصلی سرطان کولورکتال شامل جراحی، پرتودرمانی، و شیمی‌درمانی می باشد. با وجود رژیم های شیمی درمانی مختلف در درمان سرطان کولورکتال نظیر ۵-فلوئور یوراسیل و لوکوورین در ترکیب با ایرینوتکان و یا اکسالی پلاتین مرگ و میر بیماران همچنان بالا می باشد (۲). به منظور کاهش عوارض و همچنین افزایش میزان بقاء در بیماران مبتلا به سرطان کولون، استفاده از روش های درمانی جدید ضروری به نظر می رسد. آنتی اکسیدانها موادی هستند که قادرند با اثرات مضر فرایند فیزیولوژیک اکسیداسیون در بافت ها مقابله کنند. در حقیقت آنتی اکسیدانها مولکول هایی هستند که رادیکال های آزاد را شناسایی و آنها را به مولکولهای خنثی یاکم خطر تر تبدیل می کنند. مولکولهای هیدروژن دارای خواص آنتی اکسیدانی می باشند و غنی سازی آب با هیدروژن برای سلامتی بسیار مفید است (۳). هیدروژن قادر است به شکل انتخابی رادیکالهای آزاد مخرب را بزداید، و تنها آنتی اکسیدانی است که قادر است در تمامی بافتهای بدن و سلولهای مغزی حرکت کند. همه سلول ها در بدن انسان از آب و چربی تشکیل شده اند و هیدروژن قادر است رادیکالهای آزاد مخرب را در همه سلولها از آنجا که در هردوی آب و چربی حل می‌شود، از بین ببرد. هیدروژن قدرتمندترین عامل احیاگر است و پس از واکنش با رادیکالهای آزاد مخرب از بدن به شکل آب خارج می‌شود (۴, ۵). آب غنی از هیدروژن به عنوان آنتی اکسیدانی با اثر درمانی فراوان مانند پیشگیری از سرطان، کاهش کلسترول و قند خون، افزایش مقاومت بدن، کاهش چین و چروک و لکه های پوستی و بسیاری دیگر در تحقیقات بسیاری معرفی شده‌است (۶, ۷). تحقیقات مختلف ثابت کرده است که آب غنی از هیدروژن هیچ گونه تداخلی با شیمی درمانی و پرتو درمانی ندارد. در سال ۲۰۰۹ محققان ژاپنی نشان دادند که هیدروژن مولکولی باعث کاهش عوارض جانبی ناشی از داروهای ضد سرطان شیمی درمانی می شود. به همین دلیل استفاده از آب غنی شده با هیدروژن برای افراد تحت شیمی درمانی و پرتو درمانی توصیه می شود (۸). H2 حتی در غلظت های بالا بدون اثر سمیت سلولی می باشد. بنابراین استانداردهای مطمئنی به منظور استنشاق گاز هیدروژن در غلظت بالا، مورد تایید قرار گرفته اند. راه های متعددی برای مصرف هیدروژن شامل استنشاق گاز هیدروژن، نوشیدن آب حاوی هیدروژن، گرفتن حمام گاز هیدروژن، تزریق سرم نمکی غنی شده از هیدروژن، ریختن قطره های حاوی سرم نمکی غنی شده از هیدروژن در چشم و افزایش تولید هیدروژن روده ای با استفاده از باکتری وجود دارد. هیدروژن نه تنها اثرات ضد استرس اکسیداتیو نشان داده است بلکه همچنین دارای تاثیرات متعدد ضد التهاب است (۹). مطالعات مختلف نشان دادند که هیدروژن با قابلیت نفوذ خود به درون سلول و اندامک های درون سلول مثل میتوکندری می تواند فعالیت آنزیم های کاسپاز ۳ و کاسپاز ۱۲ که به ترتیب مربوط به مراحل نهایی آپوپتوزیس و شگل گیری روند التهاب هستند را متوقف کند (۹, ۱۰). در مطالعه ای که بر روی موش های مبتلا به درماتیت صورت گرفت، استفاده از آب غنی از H2 باعث کاهش شدت بیماری و بهبود سیستم ایمنی از طریق کاهش فاکتورهای التهابی مثل IL-1β و IL-33 و جلوگیری از نفوذ ماست سل ها به محل ضایعه شد(۱۱). همچنین یافته های مطالعه Xiao و همکاران بر روی موش های در معرض رادیوتراپی شکم نشان داد که آب غنی از H2ممکن است به عنوان یک درمان بالقوه برای کاهش آسیب های روده ناشی از رادیوتراپی برای سرطان شکم و لگن در کارآزمایی های بالینی استفاده شود. نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن بود که گاواژ خوراکی آب غنی از H2باعث افزایش بقا و بهبود عملکرد دستگاه گوارش و اپیتلیال موش های در معرض رادیوتراپی کل شکم می شود (۱۲). بنابراین با توجه به نتایج مطالعات و اثرات H2، این مطالعه جهت بررسی اثرات H2 در سرطان کولون طراحی شده است. **کلیدواژه‌ها:کلیدواژه‌ها به انگلیسی:نوع مطالعه:**پایه (حیوانی و آزمایشگاهی)

بررسی متون، بیان مساله و ضرورت انجام تحقیق: سرطانهای کولورکتال شایع ترین بـدخیمی دسـتگاه گـوارش و مهمترین علل مرگ و میر مرتبط با سرطان در جهان است (۱). این بیماری در ایران چهارمین دلیل مرگ و میر می باشد. بر اساس گزارشات در هر ۹ دقیقه یک مرگ به دلیل سرطان روده بزرگ اتفاق می افتد (۲). درمان های اصلی سرطان کولورکتال شامل جراحی، پرتودرمانی، و شیمی‌درمانی می باشد. با وجود رژیم های شیمی درمانی مختلف در درمان سرطان کولورکتال نظیر ۵-فلوئور یوراسیل و لوکوورین در ترکیب با ایرینوتکان و یا

اکسالی پلاتین مرگ و میر بیماران همچنان بالا می باشد (۲). به منظور کاهش عوارض و همچنین افزایش میزان بقاء در بیماران مبتلا به سرطان کولون، استفاده از روش های درمانی جدید ضروری به نظر می رسد. آنتی اکسیدانها موادی هستند که قادرند با اثرات مضر فرایند فیزیولوژیک اکسیداسیون در بافت ها مقابله کنند. در حقیقت آنتی اکسیدانها مولکول هایی هستند که رادیکال های آزاد را شناسایی و آنها را به مولکولهای خنثی یاکم خطر تر تبدیل می کنند. مولکولهای هیدروژن دارای خواص آنتی اکسیدانی می باشند و غنی سازی آب با هیدروژن برای سلامتی بسیار مفید است (۳). هیدروژن قادر است به شکل انتخابی رادیکالهای آزاد مخرب را بزداید، و تنها آنتی اکسیدانی است که قادر است در تمامی بافتهای بدن و سلولهای مغزی حرکت کند. همه سلول ها در بدن انسان از آب و چربی تشکیل شده اند و هیدروژن قادر است رادیکالهای آزاد مخرب را در همه سلولها از آنجا که در هردوی آب و چربی حل می‌شود، از بین ببرد. هیدروژن قدرتمندترین عامل احیاگر است و پس از واکنش با رادیکالهای آزاد مخرب از بدن به شکل آب خارج می‌شود (۴, ۵). آب غنی از هیدروژن به عنوان آنتی اکسیدانی با اثر درمانی فراوان مانند پیشگیری از سرطان، کاهش کلسترول و قند خون، افزایش مقاومت بدن، کاهش چین و چروک و لکه های پوستی و بسیاری دیگر در تحقیقات بسیاری معرفی شده‌است (۶, ۷). تحقیقات مختلف ثابت کرده است که آب غنی از هیدروژن هیچ گونه تداخلی با شیمی درمانی و پرتو درمانی ندارد. در سال ۲۰۰۹ محققان ژاپنی نشان دادند که هیدروژن مولکولی باعث کاهش عوارض جانبی ناشی از داروهای ضد سرطان شیمی درمانی می شود. به همین دلیل استفاده از آب غنی شده با هیدروژن برای افراد تحت شیمی درمانی و پرتو درمانی توصیه می شود (۸). H2 حتی در غلظت های بالا بدون اثر سمیت سلولی می باشد. بنابراین استانداردهای مطمئنی به منظور استنشاق گاز هیدروژن در غلظت بالا، مورد تایید قرار گرفته اند. راه های متعددی برای مصرف هیدروژن شامل استنشاق گاز هیدروژن، نوشیدن آب حاوی هیدروژن، گرفتن حمام گاز هیدروژن، تزریق سرم نمکی غنی شده از هیدروژن، ریختن قطره های حاوی سرم نمکی غنی شده از هیدروژن در چشم و افزایش تولید هیدروژن روده ای با استفاده از باکتری وجود دارد. هیدروژن نه تنها اثرات ضد استرس اکسیداتیو نشان داده است بلکه همچنین دارای تاثیرات متعدد ضد التهاب است (۹). مطالعات مختلف نشان دادند که هیدروژن با قابلیت نفوذ خود به درون سلول و اندامک های درون سلول مثل میتوکندری می تواند فعالیت آنزیم های کاسپاز ۳ و کاسپاز ۱۲ که به ترتیب مربوط به مراحل نهایی آپوپتوزیس و شگل گیری روند التهاب هستند را متوقف کند (۹, ۱۰). در مطالعه ای که بر روی موش های مبتلا به درماتیت صورت گرفت، استفاده از آب غنی از H2 باعث کاهش شدت بیماری و بهبود سیستم ایمنی از طریق کاهش فاکتورهای التهابی مثل IL-1β و IL-33 و جلوگیری از نفوذ ماست سل ها به محل ضایعه شد(۱۱). همچنین یافته های مطالعه Xiao و همکاران بر روی موش های در معرض رادیوتراپی شکم نشان داد که آب غنی از H2ممکن است به عنوان یک درمان بالقوه برای کاهش آسیب های روده ناشی از رادیوتراپی برای سرطان شکم و لگن در کارآزمایی های بالینی استفاده شود. نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن بود که گاواژ خوراکی آب غنی از H2باعث افزایش بقا و بهبود عملکرد دستگاه گوارش و اپیتلیال موش های در معرض رادیوتراپی کل شکم می شود (۱۲). بنابراین با توجه به نتایج مطالعات و اثرات H2، این مطالعه جهت بررسی اثرات H2 در سرطان کولون طراحی شده است. **هدف اصلی:** بررسی اثر درمانی آب محتوی هیدروژن به تنهایی یا همراه با داروی FU-۵ در درمان سرطان کولون در مدل حیوانی **سوال اصلی پژوهش:** آیا آب محتوی هیدروژن به تنهایی یا همراه با داروی FU-۵ می تواند اثر درمانی در درمان سرطان کولون در مدل حیوانی داشته باشد؟ **روش اجرا:**

کشت سلولهای سرطان کولورکتال:

سلولهای CT-26 سرطان کولورکتال رده ی موشی در محیط کشت RPMI 1640 یا DMEM حاوی۱۰٪ Bovin (Fetal FBS Serum)، ۲ mM L-گلوتامین و پنی سیلین و استرپتومایسین ۱٪ در دمای ۳۷°C و با حضور ۵٪ CO_2 کشت داده می شوند.

ایجاد مدل سرطان کولورکتال

ابتدا ۳۰ سر موش نر نژاد Inbred BALB/c از انستیتوپاستور ایران خریداری و به لانه حیوانات دانشکده پزشکی منتقل خواهند شد. حیوانات در طول مدت آزمایش در شرایط استاندارد زندگی و چرخه روشنایی وتاریکی طبیعی نگهداری خواهند شد . پس از یک هفته تطابق حیوانات جهت ایجاد مدل سرطان کولورکتال استفاده خواهند شد.

جهت ایجاد سرطان کولورکتال در موش ها ابتدا به تعداد ۳-۴ موش سلول CT-26 تزریق شده و پس از حدود ۱۰ تا ۱۴ روز، تومور پس از تقسیم شدن به قطعات کوچک در شرایط استریل به پهلوی چپ موش ها پیوند زده می شود. پس از اینکه تومورها به سایز حداقل ۷۰ تا ۱۰۰ میلیمتر مربع رسیدند بصورت تصادفی در گروه های ذیل قرار داده خواهند شد.

گروه کنترل: تا پایان آزمایش سالین تزریقی دریافت می کنند. (n=۶)

گروه سرطان کولورکتال دریافت کننده 5-FU به صورت داخل صفاقی (حل شونده در آب مقطر) با دوز ۵ mg/kg یک روز در میان به مدت ۱۴ روز (n=۶) (۱۳)

گروه سرطان کولورکتال دریافت کننده آب محتوی هیدروژن با دوز ۰,۷۸ Mm بصورت گاواژ به مدت ۱۴ روز (n=۶) (۱۴)

گروه سرطان کولورکتال دریافت کننده آب محتوی هیدروژن با دوز ۰,۷۸ Mm بصورت گاواژ در ترکیب با 5-FU به صورت داخل صفاقی با دوز/mg/kg ۵ روز در میان به مدت ۱۴ روز (n=۶)

در طی دوره درمان وضعیت سلامت حیوانات مورد بررسی قرار می گیرد، وزن حیوانات روز در میان اندازه گیری می شود و در صورت مرگ و میر احتمالی یادداشت می شود. وضعیت رشد تومور نیز بررسی خواهد شد و در پایان آزمایش وزن تومور مورد بررسی قرار خواهد گرفت. پس از ۱۴ روز درمان حیوانات کشته می شوند. ابتدا حیوانات وزن می شوند. بافتهای تومور خارج می شود و برای بررسی های بعدی به ۲ قسمت تقسیم می شود. بخشی از نمونه بافتی تومور جهت بررسی هیستولوژیک و رنگ آمیزی H&E و نیز رنگ آمیزی تری کروم جهت بررسی فیبروز در فرمالین ۱۰٪ قرار داده می شود و بخش دیگر آن در فریزر ۷۰- درجه قرار داده خواهد شد و استرس اکسیداتیو در هموژن بافتی مورد بررسی قرار خواهدگرفت.

بررسی فاکتورهای استرس اکسیداتیو

سنجش ترکیبات واکنش دهنده با تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

۰/۵ میلی‌لیتر از مخلوط هموژن سلولی به لوله سانتریفوژ ۱۰ میلی‌لیتری منتقل شده و سپس به آن ۳ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۱٪ و یک میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید ۰/۶ ٪ (TBA) اضافه می گردد. مخلوط حاصل به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده می شود. بعد از خنک شدن به مخلوط فوق، ۴ میلی‌لیتر n- بوتانل اضافه می شود و پس از vortex به مدت یک دقیقه، به کمک سانتریفوژ (با سرعت ۲۰۰۰۰ دور بر دقیقه rpm به مدت ۲۰ دقیقه) فاز رنگی بوتانلی جداسازی شده و جذب آن در طول موج ۵۳۲ nm خوانده می شود. از ترکیب ۱، ۱، ۳، ۳- تترامتوکسی پروپان (TMP) به عنوان استاندارد مالون دی آلدئید استفاده می گردد. TMP در محیط اسیدی و با نسبت استوکیومتری ۱:۱،

MDA آزاد می‌نماید. MDA با TBA واکنش داده و کمپلکس رنگی تولید می‌کند که در طول موج حدود ۵۳۲ nm دارای پیک جذبی است (۱۵).

سنجش میزان تام گروه های تیول (SH)

جهت سنجش گروه های تیول از معرف DTNB (معرف المان) استفاده می گردد. این معرف با گروه های SH واکنش داده کمپلکس زرد رنگی (آنیون نیترومرکاپتو بنزوات) ایجاد می کند که در طول موج ۴۱۲ nm دارای پیک جذبی است و ضریب جذب میلی مولار آن mM-1cm-1 ۱۳/۶ می باشد.

به ۵۰ µl از نمونه هموژنه ۱ میلی لیتر از بافر Tris-EDTA (۳۰ mM تریس، EDTA ۳ mM، pH=۸/۲) اضافه شده و جذب آن در طول موج ۴۱۲ nm در برابر بافر Tris-EDTA به تنهایی خوانده می شود (A1). سپس به آن ۲۰ µl معرف DTNB ۱۰ mM (در متانول) اضافه شده و بعد از حدود ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه مجددا' جذب نمونه خوانده می شود (A2). جذب محلول DTNB نیز به عنوان بلانک به تنهایی خوانده می شود (B). میزان تام گروه های تیول (mM) با استفاده از فرمول زیر محاسبه می گردد (۱۶).

میزان گروه های تیول = (B– A1– A2) ۱۳/۶ / (۰/۰۵ /۱/۰۷) ×

اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش رنگ سنجی Madesh و Balasurbamanian با استفاده از پلیت های میکروتیتر ۹۶ چاهکی صورت گرفت. روش بر پایه تولید سوپر اکسید از طریق اتواکسیداسیون پیروگالول و مهار احیا وابسته به سوپراکسید MTT به fromazan آن استوار می باشد. واکنش با اضافه کردن DMSO که کمک به حل شدن Formazan تشکیل شده و پایدار ماندن رنگ ایجاد شده می شود، متوقف می گردد. بطور خلاصه میزان مناسب از بافت هموژن شده، MTT و پیروگالول را به درون چاهک ها ریخته و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه می گردد. واکنش با اضافه کردن DMSO متوقف، سپس با یک microtiter plate reader در طول موج ۵۷۰ نانومتر بعنوان طول موج تست و طول موج ۶۳۰ نانومتر بعنوان طول موج رفرنس عمل خواندن انجام شد. یک واحد از SOD میزان پروتئین مورد نیاز برای مهار احیا MTT تا ۵۰ درصد تعریف می شود. نتایج به صورت واحد بر گرم بافت بیان خواهد شد (۱۷).

اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس توانایی آن در تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به روش Aebi سنجیده خواهد شد. تجزیه پراکسید هیدروژن با کاهش جذب در طیف جذبی ۲۴۰ نانومتر قابل بررسی است. برای این منظور از پراکسید هیدروژن ۳۰ میلی مولار بعنوان سوبسترا و از بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH = ۷ به عنوان جایگزین سوبسترا در محلول بلانک استفاده خواهد شد. محلول سنجش، محتوی حجم مناسبی از محلول هموژن بافتی و محلول پراکسید هیدروژن خواهد بود. واکنش با افزودن پراکسید هیدروژن شروع شده و کاهش جذب به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه بررسی خواهد شد. هر واحد فعالیت کاتالاز بعنوان میکرومول های پراکسید هیدروژن مصرف شده به ازای میلی گرم پروتئین تعریف می شود (۱۸).

اندازه گیری فاکتور التهابیhsCRp

فاکتور التهابی hsCRP در نمونه بافت هموژن تومور با استفاده از کیت اختصای آن اندازه گیری خواهد شد.

پیامدهای قابل اندازه گیری اصلی:

سایز تومور، وزن تومور، تغییرات هیستولوژیک بافت تومور مثل نکروز و فیبروز

حجم نمونه و روش آماری:
نحوه تحلیل داده ها:

داده ها به صورت میانگین ± میانگین انحراف معیار بیان می شوند. نرمال بودن توزیع داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف بررسی شده و سپس داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس تجزیه تحلیل خواهند شد. اختلاف معنی دار با $p<0.05$ در نظر گرفته می شود.

مدت زمان لازم برای رسیدن به این حجم نمونه: ۱۲ ماه

منابع: (قلم نازنین ۱۰ یا Time New Roman 10)

۱. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. International journal of cancer. 2015;136(۵).

۲. Abdifard E, Amini S, Bab S, Masroor N, Khachian A, Heidari M. Incidence trends of colorectal cancer in Iran during 2000-2009: A population-based study. Medical journal of the Islamic Republic of Iran. 2016;30:382.

۳. Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RG, Barzi A, et al. Colorectal cancer statistics, 2017. CA: a cancer journal for clinicians. 2017;67(3):177-93

۴. Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. Nature medicine. 2007;13(6):688.

۵. Ohta S, Nakao A, Ohno K. The 2011 medical molecular hydrogen symposium: an inaugural symposium of the journal medical Gas research. Medical Gas Research. 2011;1(1):10

۶. Ohno K, Ito M, Ichihara M, Ito M. Molecular hydrogen as an emerging therapeutic medical gas for neurodegenerative and other diseases. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2012;2012.

۷. Yang Y, Zhu Y, Xi X. Anti-inflammatory and antitumor action of hydrogen via reactive oxygen species. Oncol Lett. 2018;16(3):2771-2776. doi:10.3892/ol.2018.9023

۸. Nakashima-Kamimura, Naomi, et al. 'Molecular hydrogen alleviates nephrotoxicity induced by an anti-cancer drug cisplatin without compromising anti-tumor activity in mice.' Cancer chemotherapy and pharmacology 64.4 (2009): 753.

۹. Cai J, Kang Z, Liu WW, Luo X, Qiang S, Zhang JH, et al. Hydrogen therapy reduces apoptosis in neonatal hypoxia–ischemia rat model. Neuroscience letters. 2008;441(2):167-72.

۱۰. Zhou Y, Zheng H, Ruan F, Chen X, Zheng G, Kang M, et al. Hydrogen-rich saline alleviates experimental noise-induced hearing loss in guinea pigs. Neuroscience. 2012;209:47-53.

۱۱. Kajisa T, Yamaguchi T, Hu A, Suetake N, Kobayashi H. Hydrogen water ameliorates the severity of atopic dermatitis-like lesions and decreases interleukin-1β, interleukin-33, and mast cell infiltration in NC/Nga mice. Saudi medical journal. 2017;38(9):928.

۱۲. Xiao H-w, Li Y, Luo D, Dong J-l, Zhou L-x, Zhao S-y, et al. Hydrogen-water ameliorates radiation-induced & gastrointestinal toxicity via MyD88's effects on the gut microbiota. Experimental molecular medicine. 2018;50(1):e433

۱۳. West MA, Roman A, Astin R, Pugh S, Fernandez B, Hayden A, et al. Altered skeletal muscle mitochondrial function and redox biology with chemotherapy and exercise in a colorectal cancer mouse model. AACR; 2017.

۱۴. Kajiya M, Silva MJ, Sato K, Ouhara K, Kawai T. Hydrogen mediates suppression of colon inflammation induced by dextran sodium sulfate. Biochemical and biophysical research communications. 2009;386(1):11-5.

۱۵. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. Free Radical Biol. Med. 1990;9(6):515-40.

۱۶. Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR. Safranal, a constituent of Crocus sativus (saffron), attenuated cerebral ischemia induced oxidative damage in rat hippocampus. J Pharm Pharm Sci. 2005;8(3):394-9.

۱۷. Madesh M, Balasubramanian K. Microtiter plate assay for superoxide dismutase using MTT reduction by superoxide. Indian J Biochem Biophys. 1998;35(3):184-8.

۱۸. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984;105:121-6.

جدول تفکیکی بودجه طرح (پیش از تکمیل جداول، آیین نامه نحوه تدوین و پذیرش بودجههای پیشنهادی در طرح های پژوهشی را در آدرس http://v-research.mums.ac.ir/index.php/modiriat/rules مطالعه فرمایید)			
نوع هزینه	**مبلغ کل (ریال)**	**مبلغ درخواستی از معاونت پژوهشی (ریال)**	**مبلغ مشارکت (ریال)**
پرداخت حق الزحمه نیروی انسانی	۲،۴۰۰،۰۰۰	۲،۴۰۰،۰۰۰	
خرید خدمت و آزمایشات	۱۴،۴۰۰،۰۰۰	۱۴،۴۰۰،۰۰۰	
خرید دستگاه و تجهیزات غیرمصرفی	۰	۰	
خرید لوازم و مواد مصرفی	۱۶۰،۰۹۰،۰۰۰	۱۶۰،۰۹۰،۰۰۰	
سایر هزینه ها	۱۳،۰۰۰،۰۰۰	۱۳،۰۰۰،۰۰۰	
جمع	۱۸۹،۸۹۰،۰۰۰	۱۸۹،۸۹۰،۰۰۰	

هزینه پرسنلی با ذکر دقیق نوع فعالیت				
نوع فعالیت	**مرتبه علمی (کاردان ...)**	**ساعات لازم**	**هزینه هرساعت (ریال)**	**جمع (ریال)**
نگهداری حیوان، غذای حیوان	دیپلم	۳۰,۰	۸۰،۰۰۰	۲،۴۰۰،۰۰۰

هزینه آزمایشات و خدمات تخصصی			
موضوع آزمایش یا خدمات تخصصی	**تعداد دفعات**	**هزینه هر دفعه (ریال)**	**جمع (ریال)**
تهیه بلوک بافتی، رنگ آمیزی E&H و تری کروم	۴۸	۳۰۰،۰۰۰	۱۴،۴۰۰،۰۰۰

فهرست وسایل و مواد مورد نیاز					
نام دستگاه یا مواد	مصرفی/ غیرمصرفی	واحد وسیله	تعداد	قیمت واحد (ریال)	جمع (ریال)
موش Inbred Balb/C	مصرفی		۲۴,۰	۲۰۰،۰۰۰	۴،۸۰۰،۰۰۰
FU۵	مصرفی		۱,۰	۴۰۰،۰۰۰	۴۰۰،۰۰۰
آنتی بیوتیک پنی سیلین/ استرپتومایسین	مصرفی		۱,۰	۸۰۰،۰۰۰	۸۰۰،۰۰۰
DMEM	مصرفی		۵,۰	۱،۰۰۰،۰۰۰	۵،۰۰۰،۰۰۰
FBS	مصرفی		۱,۰	۶،۰۰۰،۰۰۰	۶،۰۰۰،۰۰۰
تریپسین	مصرفی		۵,۰	۱،۱۵۰،۰۰۰	۵،۷۵۰،۰۰۰
محیط RPMI1640	مصرفی		۵,۰	۱،۰۰۰،۰۰۰	۵،۰۰۰،۰۰۰
Plate welle 6,12,96	مصرفی		۲۰,۰	۳۰۰،۰۰۰	۶،۰۰۰،۰۰۰
فلاسک کشت سلول ۲۵ سانت و ۷۵ سانت فیلتر دار	مصرفی		۲۰,۰	۱۵۰،۰۰۰	۳،۰۰۰،۰۰۰
میکروتیوب ۱,۵ و ۲ سی سی	مصرفی		۲,۰	۱،۰۰۰،۰۰۰	۲،۰۰۰،۰۰۰
دستکش، ماسک، سرنگ، نرمال سالین، پنبه، الکل	مصرفی		۱,۰	۶،۰۰۰،۰۰۰	۶،۰۰۰،۰۰۰
آب اکسیژنه یک لیتری	مصرفی		۱,۰	۲،۰۰۰،۰۰۰	۲،۰۰۰،۰۰۰
ظرف بافتی جهت بافتهای فرمالین	مصرفی		۴۸,۰	۵،۰۰۰	۲۴۰،۰۰۰
کتامین- زایلازین	مصرفی		۱,۰	۸،۰۰۰،۰۰۰	۸،۰۰۰،۰۰۰
فرمالین	مصرفی		۱,۰	۸۰۰،۰۰۰	۸۰۰،۰۰۰
تری کلرو استیک اسید	مصرفی		۱,۰	۲،۸۰۰،۰۰۰	۲،۸۰۰،۰۰۰
تیوباربیتوریک اسید ۲۵ گرمی	مصرفی		۱,۰	۳،۲۰۰،۰۰۰	۳،۲۰۰،۰۰۰
DTNB 1 گرمی	مصرفی		۱,۰	۳،۵۰۰،۰۰۰	۳،۵۰۰،۰۰۰
تریس۵۰۰ گرمی	مصرفی		۱,۰	۵،۵۰۰،۰۰۰	۵،۵۰۰،۰۰۰
اسید کلریدریک ۲,۵ لیتری	مصرفی		۱,۰	۶۰۰،۰۰۰	۶۰۰،۰۰۰
پودر MTT ۱ گرمی	مصرفی		۱,۰	۴،۲۰۰،۰۰۰	۴،۲۰۰،۰۰۰
EDTA 100 گرمی	مصرفی		۱,۰	۳،۶۰۰،۰۰۰	۳،۶۰۰،۰۰۰
دی متیل سولفوکساید یک لیتری	مصرفی		۱,۰	۳،۶۰۰،۰۰۰	۳،۶۰۰،۰۰۰
قرص PBS	مصرفی		۱۰,۰	۳۰،۰۰۰	۳۰۰،۰۰۰
پیروگالل ۲۵ گرمی	مصرفی		۱,۰	۲،۰۰۰،۰۰۰	۲،۰۰۰،۰۰۰
کیت hsCRP اختصاصی موش	مصرفی		۱,۰	۷۵،۰۰۰،۰۰۰	۷۵،۰۰۰،۰۰۰

سایر هزینه ها (تایپ، تکثیر، پذیرایی، هدایا، مسافرت و .....)			
موضوع هزینه	**تعداد**	**هزینه هر دفعه/ واحد/ نوبت (ریال)**	**جمع (ریال)**
انتقال موش از انستیتو پاستور ایران به مشهد	۱	۱۳،۰۰۰،۰۰۰	۱۳،۰۰۰،۰۰۰

اولویت مرتبط :

در راستای اولویت نمی باشد

[ ] ضمناً مواردذیل را مطالعه نموده و تأیید می نمایم

- تایید می کنم شفافیت (transparency)، آداب (ethics) و رفتار جوانمردانه (fairness) در پیشنهاد این پژوهش رعایت شده است.

- تایید می کنم ایده این پژوهش مربوط به این تیم پژوهشی بوده و مطالب فوق را با رعایت اصول اخلاق در پژوهش و نگارش، نوشته ایم

- تایید می کنم تمامی مجریان متن را مطالعه، نقد و نسخه نهایی را تایید کرده اند.

- تایید می کنم نام همه افرادی که به نوعی در ایده، تهیه طرح پیشنهادی و اجرای آن در آینده دخالت داشته اند (هیات علمی یا دانشجو) ذکر شده است.

- تایید می کنم در صورت مشارکت کمیته تحقیقات دانشجویی، آدرس کمیته تحقیقات دانشجویی در حداقل یکی از آدرسهای دانشجو ذکر شود.

- تایید می کنم این پژوهش انجام نشده و در حال انجام نیست و مادامیکه ارزیابی علمی و اخلاقی تمام نشده، کار عملی آنرا آغاز نمی کنیم.

- تایید می کنم در نگارش این طرح از ترمینواوژی صحیح و استاندارد در حیطه پژوهشی مربوطه و دستوالعملهای معتبر استفاده شده است.

- تایید می کنم مطالب را خلاصه (جامع و مانع) و حداکثر تعداد کلمات در هربخش را دقیقا رعایت کرده ام.

- تایید می کنم از فرمت و قلم مناسب (عمدتا نازنین ۱۲) استفاده شده است و تعداد کل صفحات شناسنامه طرح حداکثر ده صفحه یا کمتر است.

ضمایم:

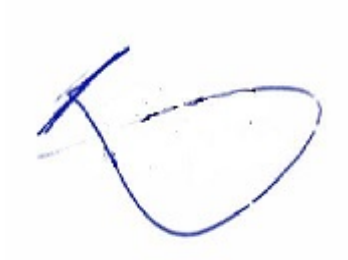
- تایید می کنم اگر پرسشنامه محصول پژوهش نیست، نسخه اولیه آن ضمیمه شده است.

- تایید می کنم چک لیست کنسورت (کارآزمایی بالینی)، استروب (مطالعات مشاهده ای) و پریسما (مرور نظامند و متا آنالیز) تکمیل و ضمیمه شده است.

- تایید می کنم چک لیست اخلاق پژوهش تکمیل و ضمیمه است.

- تایید می کنم در صورت وجود آزمودنی انسانی و نیاز، فرم رضایت آگاهانه به زبان آزمودنی تکمیل و ضمیمه شده است.

- تایید می کنم اگر مطالعه کارآزمایی بالینی است پس از تصویب علمی و اخلاقی، در رجیستری کارآزمایی های بالینی (www.irct.ir) ثبت خواهد شد.

نام و نام خانوادگی و امضا پژوهشگر طرف قرارداد

مجید خزاعی