Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 11:51 IRST on Tuesday November 21st 2017

دانشور پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال هفدهم– شماره ۸۸
شهریور ۱۳۸۹

وصول: ۸۹/۳/۲۵
آخرین اصلاحات: ۸۹/۶/۲۲
پذیرش: ۸۹/۷/۲۶

بینش پشت استفاده از بیومارکرهای IFN-G، IL-2، IL-4 وIL-10 به‌عنوان نقاط پایانی جانشین برای ابتلا به بیماری‌های پوستی ناشی از مواجهه با گاز خردل

نویسندگان: مرجان زارع[۱]، سقراط فقیه‌زاده[۲*]، طوبی غضنفری[۳]و شهره جلائی[٤]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد آمار زیستی – گروه آمار زیستی - دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس- تهران – ایران.

۲- استاد- گروه آمار زیستی- دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس- تهران – ایران.

۳- دانشیار- گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد- تهران – ایران.

٤- استادیار- گروه آمار زیستی- دانشکده توانبخشی دانشگاه علوم پزشکی تهران- تهران – ایران.

* نویسنده مسئول: E-mail: S.faghihzadeh@shahed.ac.ir

چکیده

مقدمه و هدف: دراین پژوهش هدف آن است که بینش پشت استفاده از بیومارکرهای IL-2، IL-4، IL-10 و IFN-G به‌عنوان جانشین‌های احتمالی ابتلا به بیماری‌های پوستی ناشی از مواجهه باگازخردل بررسی شود.اگر بتوان بامشاهده یک اثرمعناداردرمان روی جانشین، اثر درمان روی نقطه پایانی بالینی رااستنباط کرد، آنگاه این جانشین میتواندیک جانشین معتبر باشد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه همگروهی تاریخی شامل ۳۲۸نفر، که۲۳۵نفرمواجهه داشته با گازخردل از ساکنین سردشت به‌عنوان گروه مورد و ۹۳نفرازساکنین شهرربط که باگاز خردل مواجهه نداشته به عنوان گروه مورد،سعی شد با استفاده از نسبت خطر، چرایی استفاده از IL-2، IL-4، IL-10 و IFN-G به عنوان جانشین‌هایی برای بیماری‌های پوستی ناشی ازمواجهه با گازخردل بررسی شود.

یافته‌ها: روش مطالعه همگروهی تاریخی نشان داد، از IL-2 (در سه محیط کشت سرم، میتوژن، میتوژن نیل) وIL-10 (در چهار محیط کشت سرم، میتوژن، میتوژن نیل ونیل)، IL-4 (دردومحیط کشت میتوژن ومیتوژن نیل) می‌توان به‌عنوان جانشینی برای وجودعارضه پوستی استفاده کرد، چرا که روند بررسی عدم تأثیرمواجهه با گازخردل روی ابتلا به بیماریهای پوستی با استفاده از ا ین بیومارکرها به نتیجه مشابه انجام همین بررسی توسط وجود یا عدم وجود بیماری پوستی ناشی ازمواجهه با گازخردل به عنوان نقطه پایانی بالینی واقعی، منجر شد. اما بیومارکرهای IL-4 درمحیط کشت سرم و IFN-G (درهر سه محیط کشت سرم، میتوژن ومیتوژن- نیل) این ویژگی را نداشتند.

نتیجه‌گیری: با مشاهده IL-2 (در سه سطح)، IL-10 (در چهارسطح) و IL-4 (در دوسطح) می‌توان عدم تأثیرمواجهه باگازخردل راروی ابتلا به بیماری‌های پوستی بررسی کرد، بدون این‌که به مشاهده پیامد اصلی که همان ابتلا به بیماری‌های پوستی است، نیازی باشد.

واژگان کلیدی: بیومارکر،نقطه پایانی جانشین، نقطه پایانی بالینی واقعی، گاز خردل، نسبت خطر

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 11:51 IRST on Tuesday November 21st 2017

مقدمه

گاز خردل، از خانواده گازهای سمی، از عوامل جنگ شیمیایی تاولزا با توانایی ایجاد تاول‌های بزرگ روی پوست است و برخلاف اسمش به‌صورت گاز نیست بلکه یک مایع شیمیایی است که به بخار تبدیل می‌شود. گاز خردل خالص و بدون کلر بوده و در دمای اتاق، مایعی چسبناک است اما هنگامی که در فرم ناخالص، به‌عنوان یک عامل جنگی به کار رود به طورمعمول زرد- قهوه‌ای است و بویی شبیه گوگرد یا سیردارد، گازی ناپایدار، التهاب‌آور و سرطان‌زا است. از این ماده شیمیایی در سال ۱۳٦٦ طی جنگ تحمیلی، علیه ایران استفاده شد. از آنجا که در صورت مواجهه با گاز خردل، علائم آنی ابتلا، به سرعت بروز نمی‌کند و مناطق آلوده‌شده کاملا نرمال به نظر می‌رسند، مواجهه‌یافتگان با این گاز، ممکن است بدون اطلاع و آگاهی دوزهای بالایی از این ماده شیمیایی را دریافت کنند. با این حال حدود ٦ تا ٢٤ ساعت بعد از مواجهه، خارش و سوزش شدید در پوست ایجاد شده و به تدریج تاول‌های بزرگی که حاوی مایعی زردرنگ هستند، پدیدار می‌شود که سوختگی شیمیایی نام دارد. مواجهه کم یا متوسط با گاز خردل اغلب کشنده نیست اما فرد مبتلا تا یک دوره طولانی به درمان نیاز داشته و حتی پس از بهبودی سوختگی‌ها، خطر ابتلای روزافزون به سرطان وجوددارد (٦-١).

مکانیسم‌های ملکولی اثرات درازمدت گاز خردل، شناخته‌شده نیستند، بنابراین بیومارکرهای شناخته‌شده و ارزشمند برای تشخیص و ارزیابی پروتکل‌های درمانی در این بیماران در دسترس نیست. به همین دلیل، مشکلات زیادی در تشخیص و پیگیری‌های درمانی به ویژه اثرات مواجهه با گاز خردل وجود دارد. یکی از راه‌هایی که می‌تواند به این افراد کمک کند، یافتن بیومارکرهایی است که بتوانند اثر مواجهه با گاز خردل را پیش‌بینی کنند.

IL-2، IL-4، IL-10 و IFN-G از جمله بیومارکرهای باارزشی هستند که در مطالعات مختلف کارآزمایی‌های بالینی و روش‌های تشخیصی بررسی می‌شوند(٧). پاسخ‌های این بیومارکرها، پاسخ‌های سلولی و هومورال را نشان می‌دهند (٨). این ترکیبات اغلب از سلول‌های ایمنی ترشح شده و در بیماری‌های مختلف ارزیابی این بیومارکرها اطلاعات باارزشی را درباره پاسخ سیستم ایمنی و وضعیت بیماری فراهم می‌کند. از آنجا که در بررسی اثر یک مداخله یا در بررسی یک سیر درمان و همچنین در مطالعات اپیدمیولوژی، دسترسی به پاسخ‌های انتهایی بالینی در هر مرحله ارزیابی بسیار مشکل است و همچنین کیفی بودن پاسخ‌های به دست آمده، تحلیل و نتیجه‌گیری آن‌ها را محدود می‌کند، لزوم استفاده از بیومارکرها یا اندازه های کمی و با قابلیت تکرارپذیری بالا که در آزمایشگاه بتوان آن‌ها را به دست آورد، به جای پاسخ‌هایی همچون چگونگی احساس یا عملکرد بیماران هنگام بررسی اثرات یک مداخله، بسیار باارزش است. در کارآزمایی‌های بالینی یک نقطه پایانی جانشین اندازه اثر یک درمان مشخص است که می‌تواند با نقطه پایانی بالینی همبستگی داشته باشد اما لزوماً یک ارتباط ضمانت‌شده ندارد. سازمان بین‌الملل سلامت (USA) نقطه پایانی جانشین را به‌عنوان نشانگر حیاتی برای جایگزین کردن یک نقطه پایانی بالینی معرفی می‌کند به ویژه هنگامی که نقطه پایانی بالینی پیامدی نامطلوب مانند مرگ مرتبط با بیماری باشد یا هنگامی که تعداد پیشامدها کم باشد و در نتیجه هدایت یک کارآزمایی برای دست‌یابی به یک تعداد نقطه پایانی بالینی معنادار از لحاظ آماری ممکن نباشد (٩-١١). توجیه مناسب‌تر برای جایگزین شدن یک نشانگر حیاتی به شرایطی قوی‌تر از وجود تنها یک همبستگی نیاز دارد به طوری که اثر مداخله روی نقطه پایانی جانشین بتواند اثر مداخله روی نقطه پایانی بالینی را پیش‌بینی کند (١٢). نقطه پایانی بالینی، چگونگی احساس، عملکرد یا بقای بیمار را به طور مستقیم اندازه می‌گیرد. هرگونه تغییری که درمان روی نقطه پایانی جانشین سبب شود، تغییر در نقطه پایانی بالینی را منعکس می‌کند. یک مثال معمول از نقطه پایانی جانشین، میزان کلسترول خون است، افزایش سطح کلسترول خون احتمال بیماری قلبی را بالا می‌برد اما ارتباط بین کلسترول و بیماری قلبی خطی نیست. بسیاری از کسانی که میزان کلسترول نرمال دارند به بیماری قلبی مبتلا شده و بسیاری از کسانی که میزان کلسترول بالایی دارند به بیماری قلبی مبتلا نمی‌شوند. مرگ از بیماری قلبی، نقطه پایانی مدنظر است و کلسترول یک نشانگر جانشین است. طی یک

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 11:51 IRST on Tuesday November 21st 2017

کارآزمایی بالینی، می‌توان نشان داد، یک داروی مشخص (مانند zocor) بدون این‌که به طور مستقیم از مرگ ناشی از بیماری قلبی پیش‌گیری کند، در کاهش کلسترول خون مؤثراست (۱۳).

در اینجا سعی بر این است که از بین بیوماکرهای IL-2 و IL-4 و IL-10 و IFN-G آنهایی را که ارزش جانشینی دارند، مشخص شوند. اگر تغییر روی جانشین سبب هیچ‌گونه تغییری در وضعیت سلامت فرد نشود باید روی اعتبار جانشین به‌عنوان یک جایگزین برای نقطه پایانی بالینی تردیدداشت و به دنبال جانشینی گشت که هرگونه تغییر در آن موجب تغییر و اصلاح در وضعیت سلامت فرد شود، به عبارتی، قدرت پیش‌گویی‌کنندگی جانشین، می‌تواند روشی برای ارزیابی اعتبار جانشین باشد (١٤). اما همان‌گونه که سوتر اشاره می‌کند، به‌طور مثال اگر فشار خون بالا فی‌نفسه سبب میرایی شود، پس کاهش فشار خون با هر وسیله‌ای می‌تواند میزان میرایی را تغییر دهد اما اگر در کنار فشار خونی که خودش میرایی را افزایش می‌دهد، مکانیسم‌هایی وجودداشته‌باشند که فشار خون را بالا ببرند، پس تنها داروهایی که با دخالت روی این مکانیسم‌ها فشار خون را پایین می‌آورند، می‌توانند میزان میرایی را تغییر دهند. همچنین ممکن است، افزایش فشار خون تنها یک نشان و علامت همراه-شده با پروسه آسیب‌شناسی باشد؛ یعنی فشار خون بالا و آسیب‌شناسی مرگ موضوعاتی جداگانه روی یک موضوع باشند که در این حالت، پایین آوردن فشار خون روی میزان میرایی تأثیری نخواهدداشت (۱۵).

مور (١٦) آسیب‌های احتمالی اتکاروی جانشین غلط را، به‌طور واضح نشان داده‌است که در آن نتایج به دست آمده از یک کارآزمایی تجویز NIH-respond (دارویی برای اصلاح بی‌نظمی ضربان نبض) روی توانایی تنظیم ضربان نامنظم قلب که یک پیشگوی میرایی زودرس است نه تنها بقای بیماران را بالا نبرد بلکه سبب میرایی بالاتری نیز شد. واضح است که جانشین، مبحث مهمی است که نباید نادیده گرفته‌شود (۱۷). با توجه به اهمیت اعتبار جانشین و کنترل خطای نوع یک (مثبت کاذب) در یک کارآزمایی تصادفی، استفاده از جانشین نباید سبب افزایش خطای نوع یک شود (۱۸). بهترین راه برای تضمین اعتبار جانشین این است که برای مقایسه گروه‌ها، یک آنالیز معتبر روی جانشین و همچنین یک آنالیز معتبر روی نقطه پایانی بالینی را بنیان نهند(۱۹) که به این روند، روند معیارسنجی اعتبار جانشین گفته می‌شود.

مواد و روش کار

داده‌های مطالعه حاضر برگرفته از مطالعه غضنفری و همکاران است (۲۰) که به صورت همگروهی تاریخی روی ۳۲۸ نفر شامل ۲۳۵ فرد مواجهه‌یافته با گاز خردل در منطقه سردشت به عنوان گروه مورد و ۹۳ نفر از ساکنان شهر ربط که با گاز خردل مواجه نشده و به عنوان گروه شاهد درنظرگرفته‌شده‌اند، انجام‌گرفته‌است، تمامی۲۳۵ نفر در بیمارستان بستری شده‌بودند. ساکنین شهر ربط که در مجاورت سردشت قرار دارد از نظر قومی، فرهنگی، مذهبی و حتی استرس‌های ناشی از قرار گرفتن در منطقه جنگی و سن همگون با ساکنان سردشت بوده و تنها نقطه تفاوت آن‌ها در مواجهه با گاز خردل در اثر بمباران شیمیایی است. تشخیص متخصص پوست بر وجود یا عدم وجود عارضه پوستی بر اثر مواجهه با گاز خردل براساس دستورالعمل تأییدشده در کمسیون پزشکی بنیاد شهید و امور ایثارگران (۲۱،۳) به عنوان نقطه پایانی کلینیکی انتخاب‌شده‌است. نقطه پایانی جانشین برای جایگزین به جای علائم کلینیکی پوست در اثر مواجهه با گاز خردل بیومارکرهای IL-2 در سه سطح سرم، میتوژن و میتوژن- نیل، IL-4 در سه سطح سرم، میتوژن، میتوژن ـ نیل، IL-10 در چهار سطح سرم، میتوژن، میتوژن ـ نیل و نیل، IFN-G در سه سطح سرم، میتوژن و میتوژن- نیل اندازه‌گیری‌شده توسط آزمایشگاه و با استفاده از تکنیک الایزا است.

روش آماری

ملاک پرنتیس، استقلال شرطی درمان و نقطه پایانی بالینی را به شرط جانشین درنظرمی‌گیرد. این معیار به تنهایی نشان می‌دهد، اثر مشاهده‌شده درمان روی نقطه پایانی بالینی دلیلی است بر وجود اثر درمان روی نقطه پایانی جانشین اما برخلاف عقیده عموم، پرنتیس عکس این مطلب را تضمین نمی‌کند، به ویژه این مسئله را که بتوان با مشاهده یک اثر معنادار درمان روی جانشین، اثر درمان روی نقطه پایانی بالینی را استنباط کرد. برای

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 11:51 IRST on Tuesday November 21st 2017

سادگی T نقطه پایانی بالینی، Z مواجهه و S جانشین معرفی‌شده‌اند. این معیار (۱۹) مجموعه‌ای از چهار شرط زیر است که اعتبار یک جانشین را بررسی می‌کند.

معیار اعتبار یک جانشین، شامل بیان زیر است:

اگر P_2 آنگاه P_1؛ یعنی اگر درمان روی جانشین اثر داشته باشد، آنگاه روی نقطه پایانی بالینی واقعی اثر دارد. در نتیجه اگر P_2 درست باشد و P_1 غلط، آنگاه معیار اعتبار جانشین صادق نبوده و در نتیجه جانشین معتبر نخواهدبود.

در حالی‌که پذیرفتن ملاک پرنتیس، درستی اعتبار را نشان می‌دهد، بگ ولونگ (۲۲) این رابطه را (اگر ملاک پرنتیس آنگاه ملاک اعتبار) زیر سؤال می‌برد، به این طریق که، ملاک پرنتیس به یک مغایرت منجر می‌شود؛ یعنی آنالیز جانشینی که ارتباط کمتری با نقطه پایانی بالینی دارد از توان بیشتری برخوردار بوده، بنابراین یک حجم نمونه کمتری را طلب می‌کند تا آنالیز جانشینی که بیشتر با نقطه پایانی بالینی در ارتباط است. در حقیقت، در زمان رویارویی با ابهام، آنالیز تقریبی (آنالیز براساس جانشین)، اهمیت خود را نشان می‌دهد (۲۳) و ملاک پرنتیس می‌تواند سبب شود، شخص، آنالیز براساس جانشین را به آنالیز براساس نقطه پایانی بالینی واقعی ترجیح دهد، حتی اگر نقطه پایانی بالینی واقعی در دسترس باشد. به طور حتم، هر چه جانشین آگاهی‌بخش‌تر باشد، آنالیز از توان بیشتری برخوردار خواهدبود (۲٤). با این حال، اگر یک جانشین آگاهی‌بخش‌تر از نقطه پایانی بالینی باشد، آنگاه اطلاعات اضافی را ورای آنچه در دسترس است، ارائه می‌کند و اگر این اطلاعات اضافی منفعت بیمار را منعکس کند، آنگاه جانشین جای نقطه پایانی بالینی را خواهدگرفت. بر خلاف آنچه ما صحت کاذب می‌نامیم، جانشین، اطلاعات بیشتری از آنچه نقطه پایانی بالینی دربردارد، ارائه نمی‌کند. امکان این‌که شاید انتقاد بگ ولونگ در حقیقت انتقادی نه روی ارتباط ملاک پرنتیس که روی بیان این مطلب که این ملاک، اعتبار را نشان می‌دهد، باشد. مغایرت معیار اعتبار و ملاک پرنتیس این فهم را القا می‌کند که این ملاک ممکن است آنچه را که به نظر می‌رسد انجام می‌دهد، مانند تضمین درستی معیار اعتبار، انجام ندهد. در اینجا نشان داده خواهد شد که برای بهتر کار کردن این ملاک، معیار چهارم پرنتیس باید عکس شود، یعنی به جای این‌که نقطه پایانی بالینی واقعی و وضعیت مواجهه به شرط نقطه پایانی جانشین مستقل باشند، وضعیت مواجهه و نقطه پایانی جانشین به شرط نقطه پایانی بالینی واقعی مستقل باشند تا به جای این‌که با برآورد اثر درمان توسط نقطه پایانی بالینی واقعی، اثر درمان توسط نقطه پایانی جانشین برآورد شود و با استفاده از برآورد اثر درمان توسط نقطه پایانی جانشین بتوان اثر درمان توسط نقطه پایانی بالینی واقعی را برآوردکرد، یعنی در مسیرهایی که به نقطه پایانی بالینی واقعی ختم نمی‌شوند، نقطه پایانی جانشین نیز نباید حضورداشته باشد (۱۹).

نقطه برش براساس توزیع نرمال و حجم نمونه بزرگ و تحت شرط جورسازی کامل و با در نظر گرفتن این‌که در افراد نرمال یا همان گروه شاهد، مقادیر خیلی پایین و مقادیر خیلی بالا برای این بیومارکرها احتمال ابتلا به بیماری پوستی را افزایش می‌دهد، تعیین‌شده‌است، در افراد گروه مدنظر، ده درصد افراد دارای کمترین مقدار و ده درصد افراد دارای بیشترین مقدار بیومارکر به‌عنوان افرادی با بیشترین احتمال ابتلا به بیماری پوستی (افراد غیرنرمال) معرفی می‌شوند. در نتیجه، بیومارکر نامزد جانشین به یک متغیر دو حالتی تبدیل شده و تمام افراد به دو دسته تقسیم می‌شوند، یک دسته شامل افراد مستعد ابتلا به بیماری پوستی یعنی افرادی که با دارا بودن این مقدار از بیومارکر احتمال ابتلا به بیماری پوستی در آن‌ها زیاد بوده و افراد دسته دیگر به‌عنوان افراد نرمال، یعنی افرادی که با دارا بودن این مقدار از بیومارکر احتمال ابتلا به بیماری پوستی در آن‌ها کمتر است. در نتیجه، مقادیر بیومارکرهای زیر صدک دهم و بالای صدک نودم (تعیین‌شده توسط افراد گروه شاهد یا افرد نرمال تحت مطالعه به‌عنوان نقطه برشی برای نقطه پایانی جانشین که در صورت دارا بودن این مقدار بیشترین احتمال ابتلا به بیماری‌های پوستی برای فرد وجود دارد (S=1)) و افراد درون این بازه (به‌عنوان نقطه برشی برای نقطه ی پایانی جانشین که در صورت دارا بودن این مقدار کمترین احتمال ابتلا به بیماری‌های پوستی برای فرد وجود دارد (S=0)) ارائه می‌شوند.

متغیر Z نشان دهنده وضعیت مواجهه (Z=1 برای مواجهه با گاز خردل و z=0 برای عدم مواجهه با گاز

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 11:51 IRST on Tuesday November 21st 2017

خردل)، T نقطه پایانی بالینی دو حالتی (T=1 وجود مشکل پوستی و T=0 عدم وجود مشکل پوستی) و متغیر دو حالتی S تعریف‌شده به روش بالا که برای هر بیومارکر به‌طور مجزا به‌دست آمده‌است. به‌طورمعمول، اگر تعداد افراد با دارا بودن مقادیری برای جانشین با بیشترین احتمال ابتلا به بیماری‌های پوستی (رخداد S=1) بیشتر از تعداد افرادی باشد که واقعاً دچار بیماری‌های پوستی هستند (رخداد T=1)، آنگاه مشاهده افرادی با دارا بودن مقادیری برای جانشین با کمترین احتمال ابتلا به بیماری‌های پوستی (رخداد S=0) آگاهی‌بخش‌تر از مشاهده تعداد افرادی با دارا بودن مقادیری برای جانشین با بیشترین احتمال ابتلا به بیماری‌های پوستی (رخداد S=1)) است. برعکس، اگر تعداد افراد با دارا بودن مقادیری برای جانشین با بیشترین احتمال ابتلا به بیماری‌های پوستی (رخداد S=1) کمتر از تعداد افرادی باشد که واقعاً دچار بیماری‌های پوستی هستند (رخداد T=1)، آنگاه مشاهده افرادی با دارا بودن مقادیری برای جانشین با بیشترین احتمال ابتلا به بیماری‌های پوستی (رخداد S=1) آگاهی بخش تر از مشاهده تعداد افرادی با دارا بودن مقادیری برای جانشین با کمترین احتمال ابتلا به بیماری‌های پوستی (رخداد S=0) است.

یعنی برای یک نقطه پایانی جانشین نایاب داریم:

$$P(T=1 \mid S=1) \succ P(T=0 \mid S=0)$$

و برای یک پیشامد نقطه پایانی جانشین رایج داریم: $P(T=0 \mid S=0) \succ P(T=1 \mid S=1)$

و این یعنی، برای پیشامد نقطه پایانی جانشین نایاب نرخ طبقه‌بندی نادرست، در زمان برآورد نقطه پایانی بالینی واقعی براساس نقطه پایانی جانشین به مقدار نقطه پایانی جانشین بستگی خواهدداشت، یعنی: $P(T=0 \mid S=1) \prec P(T=1 \mid S=0)$

و برای یک نقطه پایانی جانشین رایج داریم: $P(T=1 \mid S=0) \prec P(T=0 \mid S=1)$

معمولاً چون بیومارکرها قبل از مشاهده نقطه پایانی بالینی مشاهده می‌شوند، انجام آزمون با بیومارکرها زودتر به نتیجه رسیده و در نهایت در وقت و هزینه صرفه‌جویی می‌شود و به خصوص هنگامی که نقطه پایانی بالینی یک پیشامد ناخوشایند مانند مرگ در ارتباط با بیماری باشد، انجام آنالیز با بیومارکرها بقای افراد را افزایش داده و از گمشدن افراد در طول دوره پایش و تحمل بیشتر ناراحتی‌های ناشی از دوره مطالعه طولانی، پیش‌گیری می‌کند. پس اگر آنالیز با استفاده از اطلاعات نقطه پایانی بالینی واقعی و آنالیز با استفاده از اطلاعات نقطه پایانی جانشین به یک نتیجه یکسان منجر شود، باید روی ارزش جانشین تکیه کرد و در نتیجه استفاده از نقطه پایانی جانشین منابع را حفظ کرده و اطلاعات کافی را به دست خواهد آمد.

محاسبات آماری با نرم‌افزار SPSS15 انجام‌شده‌است.

یافته‌ها

در آنالیز با تمامی بیومارکرها، احتمال این‌که فرد واقعاً دچار بیماری پوستی باشد به شرط دارا بودن مقدار بیومارکر با کمترین احتمال ابتلا به بیماری پوستی، صفر است ($P(T=1 \mid S=0)=0$). در این آنالیز ۲۳۵ نفر در گروه مواجهه (مورد) و ۹۳ نفر در گروه غیرمواجهه (شاهد) قرار دارند که هر فرد تا زمان رخداد، هم نقطه پایانی بالینی واقعی و هم نقطه پایانی جانشین پایش می‌شود. در حقیقت، اندازه واقعی نمونه‌ها مهم نیست و تنها نرخ‌ها مدنظر قراردارند که در اینجا تنها برای وضوح بیشتر، اندازه نمونه‌ها مشخص می‌شوند.

در گروه مواجهه، هفتاد نفر از ۲۳۵ نفر (۲۹درصد) و درگروه شاهد دوازده نفر از ۹۳ نفر گروه غیرمواجهه (۱۲درصد) به بیماری پوستی دچار شده‌اند، پس نسبت خطر با استفاده از نقاط پایانی واقعی برابر ۲/۳ است.

$$RR_T = 2.3$$

یعنی احتمال ابتلا به بیماری‌های پوستی، در افراد مواجهه‌یافته با گاز خردل ۲/۳ برابر احتمال ابتلا به بیماری‌های پوستی در گروه مواجهه‌نیافته‌است، در نتیجه نشان‌دهنده مضربودن مواجهه است.

۱. بررسی عدم تأثیر مواجهه با گاز خردل براساس بیومارکر IL-2 در سه سطح سرم، میتوژن و میتوژن‌ـــنیل:

در محیط کشت سرم: در گروه مواجهه، ٥٦ نفر از ۲۳۵ نفر، دارای IL-2 در سطح سرم، دارای S=1

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 11:51 IRST on Tuesday November 21st 2017

(۲۳درصد) و ۱۹ نفر از ۹۳ نفر گروه غیرمواجهه دارای S=1 (۲۰درصد) هستند:

$$RR_{IL-2\ SERUM} = 1.35$$

در حضور میتوژن: در گروه مواجهه، ۵۲ نفر از ۲۳۵ نفر دارای IL-2 در محیط کشت میتوژن، به‌عنوان S=1 (۲۲درصد) و ۱۸ نفر از ۹۳ نفر در گروه غیرمواجهه دارای S=1 (۱۹درصد) هستند:

$$RR_{IL-2\ MITOGEN} = 1.14$$

در حضور میتوژن ـ نیل: در گروه مواجهه ٥٤ نفر از ۲۳۵ نفر دارای IL-2 در محیط کشت میتوژن ـ نیل، به‌عنوان S=1 (۲۲درصد) و ۱۸ نفر از ۹۳ (۱۹درصد) نفر در گروه غیرمواجهه دارای S=1 هستند:

$$RR_{IL-2\ MITOGEN-NILL} = 1.18$$

در هر سه حالت بالا، معیار چهارم پرنتیس، به طورعکس برآوردشده‌است؛ یعنی با برآورد اثر مواجه با بیومارکر، اثر مواجه روی نقطه پایانی بالینی برآوردمی‌شود. مواجهه با گاز خردل احتمال ابتلا به بیماری‌های پوستی را افزایش می‌دهد که همان نتیجه به دست‌آمده از آنالیز براساس مشاهده بیماری پوستی به‌عنوان نقطه پایانی بالینی واقعی است. پس این بیومارکرها می‌توانند اثر مواجهه با گاز خردل را پیش‌بینی کرده و در نتیجه، جانشین خوب ابتلا به بیماری پوستی باشند.

۲. بررسی عدم تأثیر مواجهه با گاز خردل، براساس بیومارکر IL-4 در سه سطح سرم، میتوژن و میتوژن ـ نیل:

در محیط کشت سرم: در گروه مواجهه ٣٤ نفر از ۲۳۵ نفر دارای IL-4 در سطح سرم، دارای S=1 (١٤درصد) و ۱۹ نفر از ۹۳ نفر گروه غیرمواجهه دارای S=1 (۲۰درصد) هستند. نسبت خطر براساس این بیومارکر ۰/۷۰۸ است:

یعنی با استفاده از IL-4 در سطح سرم، نتیجه‌ای متناقض با نتیجه به دست‌آمده با نقطه پایانی بالینی کسب‌شد. پس این بیومارکر دارای ارزش جانشینی نیست چون معیار چهارم پرنتیس به طور عکس برآورده‌نشده‌است؛ یعنی با برآورد اثر مواجه با بیومارکر، نمی‌توان اثر مواجه روی نقطه پایانی بالینی را برآورد کرد.

در حضور میتوژن: در گروه مواجهه، ۸۳ نفر از ۲۳۵ نفر دارای IL-4 در حضور میتوژن، دارای S=1 (۳۵درصد) و ۱۸ نفر از ۹۳ نفر گروه غیرمواجهه دارای S=1 (۱۹درصد) هستند. نسبت خطر براساس این بیومارکر ۱/۸۲ است.

در حضور میتوژن ـ نیل: در گروه مواجهه ١٠٦ نفر از ۲۳۵ نفر دارای IL-4 در سطح میتوژن ـ نیل، دارای S=1 (٤٥درصد) و ۱۸ نفر از ۹۳ نفر گروه غیرمواجهه دارای S=1 (۱۹درصد) هستند. نسبت خطر براساس این بیومارکر ۲/۳۳ است.

در این دو حالت، معیار چهارم پرنتیس به‌طور عکس برآورده‌شده‌است؛ یعنی با برآورد اثر مواجه با این دو بیومارکر، اثر مواجه روی نقطه پایانی بالینی برآورد می‌شود.

۳. بررسی عدم تأثیر مواجهه با گاز خردل براساس بیومارکر IL-10 در چهار سطح سرم، میتوژن، میتوژن ـ نیل و نیل:

در محیط کشت سرم: در گروه مواجهه ٦١ نفر از ۲۳۵ نفر دارای IL-10 در سطح سرم، دارای S=1 (٢٦درصد) و ۱۸ نفر از ۹۳ نفر گروه غیرمواجهه دارای S=1 (۱۹درصد) هستند. نسبت خطر براساس این بیومارکر ١/٣٤ است.

در حضور میتوژن: در گروه مواجهه ٦٢ نفر از ۲۳۵ نفر دارای IL-10 در سطح میتوژن دارای S=1 (٢٦درصد) و ۱۸ نفر از ۹۳ نفر گروه غیرمواجهه دارای S=1 (۱۹درصد هستند. نسبت خطر براساس این بیومارکر ۱/۳ است.

در حضور میتوژن ـ نیل: در گروه مواجهه، ٨٤ نفر از ۲۳۵ نفر دارای IL-10 در محیط کشت میتوژن- نیل به‌عنوان S=1 (۳۵درصد) و ۱۸ نفر از ۹۳ نفر در گروه غیرمواجهه دارای S=1 (۱۹درصد) هستند. نسبت خطر براساس این بیومارکر برابر ١/٨٤ است.

در حضور نیل: در گروه مواجهه ٩٦ نفر از ۲۳۵ نفر در سطح نیل IL-10 دارای S=1 (٤٠درصد) و ۲۷ نفر از ۹۳ نفر گروه غیرمواجهه دارای S=1 (۲۹درصد) هستند. نسبت خطر براساس این بیومارکر ١/٤ است. با این بیومارکرها یک نتیجه یکسان مضربودن مواجهه با گاز

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 11:51 IRST on Tuesday November 21st 2017

خردل برای ابتلا به بیماری‌های پوستی به‌دست‌آمد. همچنین معیار چهارم پرنتیس به‌طورعکس برآورده‌شده است یعنی با برآورد اثر مواجه با بیومارکر، اثر مواجه روی نقطه پایانی بالینی برآورد می‌شود.

٤. بررسی عدم تأثیر مواجهه با گاز خردل براساس بیومارکر IFN-G در سه سطح سرم، میتوژن و میتوژن‌ـ نیل:

در محیط کشت سرم: در گروه مواجه ٤٤ نفر از ۲۳۵ نفر دارای IFN-G در سطح سرم، دارای S=1 (۱۸درصد) و ۱۸ نفر از ۹۳ نفر گروه غیرمواجهه دارای S= 1 (۱۹درصد) هستند. نسبت خطر براساس این بیومارکر ۰/۹٦ است.

در حضور میتوژن: در گروه مواجهه، ۳٤ نفر از ۲۳۵ نفر دارای IFN-G در سطح میتوژن، دارای S=1 (١٤درصد) و ۱۸ نفر از ۹۳ نفر گروه غیرمواجهه دارای S=1 (۱۹درصد) هستند. نسبت خطر براساس این بیومارکر ۰/۷٤ است.

در حضور میتوژن ـ نیل: در گروه مواجه، ۳۷ نفر از ۲۳۵ نفر دارای IFN-G در سطح میتوژن‌ـ نیل، دارای S=1 (۱۵درصد) و ۱۸ نفر از ۹۳ نفر گروه غیرمواجهه دارای S=1 (۱۹درصد) هستند. نسبت خطر براساس این بیومارکر ۰/۸۱ است.

یعنی با استفاده از IFN-G در هر چهار سطح، یک نتیجه متناقض با نتیجه به‌دست‌آمده با نقطه پایانی بالینی کسب‌شد پس این بیومارک‌ها دارای ارزش جانشینی نیستند، یعنی معیار چهارم پرنتیس به‌طورعکس برآورده نشده است و با برآورد اثر مواجه با این بیومارکرها، نمی‌توان اثر مواجه روی نقطه پایانی بالینی را برآوردکرد.

بحث

از بین بیومارکرهای ذکرشده در بالا، هر کدام در چند محیط کشت مختلف، آنالیز براساس بیومارکرهای IL-2 در سه محیط، L-10 در چهار محیط کشت، IL-4 ، به نتیجه یکسان آنالیز براساس وجود یا عدم وجود بیماری پوستی رسیدند که در نتیجه می‌توانند یک جانشین برای بیماری پوستی ناشی از مواجه با گاز خردل باشند. اما بیومارکر IL-4 در سطح سرم و IFN-G در هر سه سطح سرم، میتوژن و میتوژن ـ نیل جانشین مناسبی برای بیماری پوستی ناشی از مواجه با گاز خردل نیستند. از بین تمامی این بیومارکرها، آنالیز براساس IL-4 در سطح میتوژن ـ نیل، می‌توانست به بهترین صورت آنالیز فرض صفر عدم تأثیر مواجه بر بیماری پوستی را برآورد کند چر اکه نسبت خطر براساس این بیومارکر ۲/۳۳ است که نزدیک‌ترین عدد در بین نسبت‌های خطر دیگر به نسبت خطر براساس نقطه پایانی بالینی واقعی بود.

در افراد نرمال، تعداد ناکافی کسانی‌که به بیماری پوستی مبتلا بودند، به تعیین نقطه برش بر اساس استاندارد توزیع نرمال منجر شد ($p>0.05$). به کمک معیارهای پرنتیس، سهم اثر مواجهه توصیف‌شده با هر یک از جانشین‌ها به‌دست می‌آید که به جانشین‌های آماری موسوم هستند (٢٦-٣٠) وجود جانشین‌های آماری برای تأثیر مواجهه روی بیماری لازم بوده اما کافی نیست. بیومارکرهایی که برای تأثیر مواجهه روی بیماری، هم لازم و هم کافی باشند، به جانشین‌های اصلی معروفند. این جانشین‌ها براساس طبقه-بندی اصلی و اثرات علی (اثراتی که منحصر به درمان هستند و نه هیچ صفت یا صفاتی از بیمار یا شرایط بیماری) بررسی می‌شوند (٣١-٣٤). همچنین مواجهه با مکانیسم های متفاوتی روی ابتلا به بیماری‌های پوستی اثر می‌کند، بهتر است اثر جانشینی همزمان چندین بیومارکر را در نظر گرفت (٣٤و٣٥).

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 11:51 IRST on Tuesday November 21st 2017

منابع

1- Evison D, Hinsley D, Rice P:Chemical Weapons.BMJ 2-9-2002; 324: 332-335.

2- Bullman T, Kang H:A fifty year mortality follow-up study of veterans exposed to low level chemical warfare agent ,mustard Gas. Ann Epidemiol 2000; 10: 333-338.

3- Khateri S, Ghanei M, Keshavarz S, Soroush M, Haines D:Incidence of lung ,eye and skin lesion as late complications in 34ooo Iranians with wartime exposure to mustard agent. J Occp Environ Med 2003:45:1136-1143.

4- Ghanei M, Aslani J, Khateri S, Hamadanizadeh K:Public health status of the civil population of sardasht 15 years of Burns & Surgical Wound Care 2003; 2: 7-18.

5- Momeni AZ, Enshaeih S, Meghdadi M, Aminidjavaheri M:Skin manifestation of mustard gas. A clinical study of 535 patients exposed to mustard gas. Arch Dermatol 1992;128:775-780.

6- Emadi SN, Hosseini-khalili A, Sorush MR, DavoodiSM, Aghamiri SS. Mustard gas scarring with specific pigmentary , trophic and vascular characteristics(case report, 16-year post-exposure. Ecotoxicology and Enviromental SafetyIn press , Corrected Proof :-792.

7- Temple RJ. Are surrogate markers adequate to assess cardiovascular disease drug? Journal of the American Medical Association 1999;282:790-795.

8- Biomarkers De nition Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred de_nitions and conceptual frame work.Clinical Pharmacology and Therapeutics 2001;69:89-95.DOI:10.1067=mcp.2001.113989.

9- JSN Mattews.An introduction to randomized controlled clinical trial 2001;30:908-909.

10- Jay N. Cohn, MD . Introduction to Surrogate Markers *Circulation* 2004;109:IV-20 – IV-21.

11- Alexander Goho. An Imperfect Subtitle CR Magazine. Spring 2009.

12- Fleming T, David D. Surrogate End Points in Clinical Trials: Are We Being Misled? Ann Intern Med. 1996 Oct 1;125(7):605-13

13- Temple RJ. A regulatory authority's opinion about surrogate endpoints. Clinical Measurement in Drug Evaluation. Edited by Nimmo WS, Tucker GT. New York: Wiley; 1995.

14- Lagakos SW, Hot DF. Surrogate markers in AIDS: Where are we? Where are we going? Annals of Internal Medicine 1992;116(7):599-601

15- Sutter MC. Assigning causation in disease: beyond Koch's postulates. Perspectives in Biology and Medicine 1996;39(4):581-592.

16- Moor T. Deadly Medicine. Harper-Collins: New York,1995.

17- Vourlekis JS. Szabo E. Predicting success in cancer prevention trials. Journal of the National Cancer Institute 2003;95(4):178-179.

18- Berger VW.Pros and cons of permutation tests. Statistics in Medicine 2000;19;1319-1328.

19- Prentice RL. Surrogate endpoints in clinical trials: definition and operational criteria. Statistics in Medicine 1989;8:431-440

20- Ghazanfari T, Faghihzadeh S, Aragizadeh H. Historical Cohort Study of Chemical Warfare Victims,20 Yea after Sulfur Mustard Exposure(Sardasht- Iran Study): Design and Methods Arch Iranian Med 2009; 12 (1): 5 – 14.

21- Balali-Mood M, Hafezi M. The pharmacology, toxicology, and medical treatment of sulfur mustard poisoning. Fundam Clin Pharmacol 2005;19:297-315..

22- Begg CB,Leung DHY.on the use of surrogate endpoints in randomized trials. The Journal of the Royal Statistical Society Series A 2000;163:15-24.

23- Berger VW, Lunneborg C, Ernst MD, Levine JG. Parametric analysis in randomized clinical trials. Journal of Modern Applied Statistical Methods(JMASM) 2002;1(1):74-82.

24- Berger VW. Improing the information content of categorical clinical trial endpoints. Controlled clinical trials 2002;23:502-514.

25- Vance W. Berger.Does the Prentice criteria validate surrogate endpoints? Med. 2004; 23:1571-1578.

26- Alonso A, Molenberg G, Geys H, Buyse M, Vangeneugden T. Unifying approach for surrogate marker validation based on Prentice criteria. STATISTIC IN MEDICINE 2006; 25:205-221.

27- Li Z, Meredit MP, Hosseyni MS. A method to assess the proportion of treatment effect explained by a surrogate endpoint STATISTIC IN MEDICINE 2001; 20:3175-3188.

28- Chen H, Geng Z, Jia J. Criteria for surrogate endpoints. J. R. Statist. Soc. B 2007; 69: 919- 932.

29- Chen C, Wang h, Snapinn SM. Proportion of treatment effect (PTE) explained by a surrogate marker. STATISTIC IN MEDICINE 2003; 22:3449-3459.

30- Weir CJ, Walley RJ. Statistical evaluation of biomarkers as surrogate endpoints: a literature review. STATISTIC IN MEDICINE 2006; 25:183203.

31- Joffe MM, Green T. Related Casual Framework for Surrogate Outcomes. Biomarkers 2009; 65: 530-538.

32- Frangakis CE, Rubin DB. Principal Stratification in Casual Inference. Biometrics 2002; 58: 21-29.

33- Gilbert PB, Hudgens MG. Evaluating Principal Surrogate Endpoints. Biometrics 2008; 64: 1146-1154.

34- Xu J. The Evaluating of Multiple Surrogate Endpoints. Biometrics 2001; 57: 81-87.

35- Qu Y, Case M. Quantifying the indirect treatment effect via surrogate markers. STATISTIC IN MEDICINE 2006; 25:223-231.