جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

معاونت تحقیقات و فناوری

فرم پیشنهاد طرح های کارآزمایی بالینی

عنوان طرح: بررسی اثربخشی اگزوزوم های مشتق شده از سلولهای بنیادی مزانشیمی پلاسنتا بر بهبودعلایم فیبروز اینتراستیشیال ریه در بیماران اسکلروز سیستمیک یک کارآزمایی بالینی تک بازویی

مجری /مجریان(حداکثر دو نفر): دکتر شیرین عصار،دکترکامران منصوری

محل ارائه طرح اولیه: واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان امام رضا

تاریخ پیشنهاد:۱۴۰۰

درصورتی که پروپوزال مربوط به پایان‌نامه دانشجویی است، قسمت ذیل تکمیل شود:

- نام و نام خانوادگی دانشجو:
- نام و نام خانوادگی به انگلیسی:
- شماره دانشجویی:
- کد ملی دانشجو:
- سال ورود به دانشگاه:
- مقطع تحصیلی دانشجو:
- رشته تحصیلی دانشجو:
- شماره تماس:
- آدرس الکترونیک (ایمیل):

۱) اطلاعات مربوط به مجری و همکاران

۱-۱) لیست مشخصات مجری و همکاران:

(درصورتی که مجری بیش از یک نفراست، برای هرکدام با شماره‌های ۱، ۲ و ... به طور مجزا مشخصات تکمیل شود.)

ردیف	نام و نام خانوادگی	سمت در طرح (مجری، مشاور، ...)	رشته تحصیلی و تخصص	مرتبه علمی	دانشگاه یا موسسه محل خدمت	نقش اجرایی در طرح
۱	خانم دکتر شیرین عصار	مجری	فوق تخصص روماتولوژی	دانشیار و عضو هیت علمی دانشگاه	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	تمامی مراحل تحقیق و انتخاب بیماران و نگارش مقاله
۲	اقای دکتر کامران منصوری	مجری	علوم آزمایشگاهی و خون شناسی و بانک خون و پزشکی مولکولی	دانشیار و عضو هیت علمی دانشگاه	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	همکاری در تمام مراحل ، تهیه و استفاده اگزوزوم ها در بیماران
۳	اقای دکتر داریوش حسنی نیا	همکار	فوق تخصص ریه	عضو هیت علمی دانشگاه	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	همکاری در انجام تحقیق و انتخاب و درمان بیماران و تفسیر تستهای عملکردی ریه
۴	دکتر دنا محمدزاده	همکار	رزیدنت داخلی	رزیدنت داخلی	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	همکاری در انجام تحقیق و نگارش مقاله
۵	دکتر مهرداد پاینده	همکار	فوق تخصص انکولوژی و پیوند سلولهای بنیادی	دانشیار و عضو هیت علمی دانشگاه	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	همکاری در انجام تحقیق و انتخاب و درمان بیماران

۶	دکتر علی مصطفایی	همکار	دکتری ایمنولوژی	عضو هیت علمی دانشگاه	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	همکاری در فرایند تهیه و استفاده اگزوزوم ها در بیماران
۷	دکتر شیما فامیل سماواتی	همکار	دکترا ی بیوشیمی	دانشجوی پسا دکتری	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	همکاری در فرایند تهیه و استفاده اگزوزوم ها در بیماران
۸	دکتر امیر حسین نوروزنژاد	همکار	پزشک عمومی	پزشک عمومی	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	همکاری در فرایند تهیه و استفاده اگزوزوم ها در بیماران
۹	دکتر رضا یارانی	همکار	استاد یار علوم سلولی کاربردی	عضو هیت علمی دانشگاه	دانشگاه استنفورد	همکاری در فرایند تهیه و استفاده اگزوزوم ها در بیماران
۱۰	خانم زهره حسیخانی	همکار	کارشناس ارشد بیولوژی مولکولی	پژوهشگر	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	همکاری در فرایند تهیه و استفاده اگزوزوم ها در بیماران
۱۱	دکتر فاطمه حیدرپور	همکار	استاد یار اپیدمیولوژی	هیت علمی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	همکاراصلی در آمار و انالیز داده ها
۱۲	دکتر مهران پورنظری	همکار	فوق تخصص روماتولوژی	هیت علمی دانشگاه	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	همکاری در انجام تحقیق و انتخاب و درمان بیماران
۱۳	دکتر محمد غریب صالحی	همکار	متخصص رادیولوژی	هیت علمی دانشگاه	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	تفسیر داده های سی تی اسکن، پلاتیسموگرافی و DLCO
۱۴	دکتر الهام شبیری	همکار	متخصص رادیولوژی	هیت علمی دانشگاه	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	تفسیر داده های سی تی اسکن، پلاتیسموگرافی و DLCO
۱۵	سارا کیانی	همکار	کارشناسی ارشد بیوشیمی	کارشناس آزمایشگاه	دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه	همکاری در فرایند تهیه و استفاده اگزوزوم ها در بیماران

۱-۲) شماره تماس مجری/مجریان: 083342276301 **ایمیل:**
sh758us@yahoo.com
kamranmansouri@gmail.com

۱-۳) تعداد ۵ مورد از جدیدترین مقالات قبلی مجری/مجریان: (مقالات طبق راهنمای مرجع نویسی وونکور نوشته شوند.)

1-Shooshtary MH, Talaizadeh AH, **Assar S**, Arnineh BK, Nateghi J, Rahdar M. Evaluation of carcinoemberionic antigen CEA and CA15. 3 tumor markers in patients operated for breast cancer. Pak J Med Sci January-March. 2007 Jan 1;23(1):115-8

2-**S Assar**, B Sadeghi, F Davatchi, SZ Ghodsi, A Nadji, F Shahram, Association of pathergy reaction and active clinical presentation of Behcet’s Disease; Reumatologia; Reumatologia. 2017; 55(2): 79–83.

3- P Zafari, K Yari, S Mostafaei, N Iranshahi**, S Assar**, A Fekri, M Taghadosi ;Analysis of Helios gene expression and Foxp3 TSDR methylation in the newly diagnosed Rheumatoid Arthritis patients; Immunological investigations ;2018;47(6):1-11 ·

4- S Mortezagholi, Z Babaloo, P Rahimzadeh, M Ghaedi, H Namdari, **Sh.assar,** Evaluation of PBMC distribution and TLR9 expression in patients with systemic lupus erythematosus; Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology;2016;15(3): 299-236

5- M Shavandi, A Moini, Y Shakiba, A Mashkorinia, M Dehghani, **S Asar,** Silymarin (Livergol®) decreases disease activity score in patients with rheumatoid arthritis: A non-randomized single-Arm clinical trial, Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology,2017,16(2):99-16

6- E Shamsian, M Azarian, M Akhlaghi, M Samaei, AR Jamshidi, **S Assar**, PADI4 Polymorphisms in Iranian Patients with Rheumatoid Arthritis, Acta reumatologica portuguesa,2016;41(4):338-343

7- N Iranshahi, S Assar, SM Amiri, P Zafari, A Fekri, M Taghadosi, Decreased Gene Expression of Epstein-Barr Virus-Induced Gene 3 (EBI-3) may Contribute to the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis, Immunological investigations ;2019,48(4):1-11

8- Assar, S., Gandomi, F., Mozafari, M, Sohaili, F. The effect of Total resistance exercise vs. aquatic training on self-reported knee instability, pain, and stiffness in women with knee osteoarthritis: A randomized controlled trial, BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation;2020, 12(1),27

۲) اطلاعات مربوط به طرح پژوهشی:

۲-۱) عنوان فارسی: بررسی اثربخشی اگزوزوم هـای مشـتق شـده از سـلولهای بنیـادی مزانشـیمی پلاسنتا بر بهبودعلایم فیبروز اینتراستیشیال ریه در بیماران اسـکلروز سیسـتمیک، یـک کارآزمـایی بالینی

۲-۲) عنوان انگلیسی:

Evaluation of the therapeutic efficiency of the placenta mesenchymal stem cell–derived exosomes on improvement of interstitial lung disease symptoms in systemic sclerosis patients, A clinical trial

۲-۳) اولویت پژوهش: (طرح شما در راستای کدام اولویت پژوهشی دانشگاه است، عنوان و شماره اولویت ذکر شود.)

علوم پایه پزشکی-۴-تحقیقات مرتبط با سلول های بنیادی

۲-۴) بیان مسئله (اهمیت موضوع، و هدف طرح):

اسکلروز سیستمیک بیماری خود ایمن سیستمیک با منشا ناشناخته می باشد که با پروسه فیبروزان پیشرونده که پوست و عروق و ارگان های داخلی را درگیر می کند, مشخص می شود. اسکلروز سیستمیک بیماری نسبتا ناشایع با بروز ۲۰ مورد در یک میلیون نفر در سال می باشد و به طور عمده زنان ۳۰ تا ۵۰ سال را در گیر می کند. کالج روماتولوژی امریکا در سال ۱۹۸۰ بیماری اسکلروز سیستمیک را به دو دسته محدود (limited) و منتشر (diffuse) تقسیم کرد. سه فاکتور اصلی شناخته شده در پاتوژنز بیماری شامل واسکولوپاتی , التهاب و فیبرروز می باشد. فیبروز ویژگی متمایز کننده اسکلروز سیتمیک می باشد که می تواند پوست و سایر ارگان ها را درگیر کند(۲۱). اگرچه ارگان های متفاوتی در این بیماری درگیر می شود ولی علت اصلی مرگ در بیماران اسکلرودرمی درگیری ریه است. مهمترین انواع درگیری ریه شامل هایپرتنشن شریان ریوی (PAH) و بیماری اینتراستیشیال ریوی (ILD) می باشد. درگیری اینتراستیشیال ریوی بر اساس یافته های سی تی اسکن ریوی (HRCT) و تست های عملکرد ریوی تشخیص داده می شود و وجود فیبروز ریه در سی تی اسکن یا کاهش ظرفیت عملکردی ریوی (FVC) به کمتر از ۸۰ درصد اندیکاسیون شروع درمان می باشد(۲۲). گرچه فیبروز ریوی با درمان های رایج ندرتا برگشت پذیر است, مطالعات گذشته نتایج متفاوتی را در پاسخ دهی به داروهای ضد روماتیسمی تعدیل کننده ایمنی (DMARD) نشان داده اند. تجویز سیکلوفسفامايد به مدت یکسال در مقایسه با پلاسبو از نظر بالینی سودمند بوده است. و مطالعه دیگری نشان داده است که تجویز مایکوفنولات موفتایل به مدت دو سال در مقایسه با سیکلوفسفامايد در بهبود FVC موثرتر بوده است. با این حال مطالعات

دیگری جهت پیدا کردن داروهایی که بتوانند پروسه فیبروز را مهار کنند در جریان است. ولی تا کنون درمان قطعی جهت ان شناخته نشده است (۲۳–۲۵).
همچنین از پیوند اتولوگ سلول های بنیادی در درمان اسکلروز سیستمیک و عوارض ان استفاده شده است که در مواردی در بهبود درگیری ریوی و پوستی ثمربخش بوده است ولی پیوند اتولوگ سلول های بنیادی مغز استخوان اقدامی تهاجمی و دارای عوارض زیاد می باشد و نمی تواند به عنوان متد درمانی رایج در این بیماران استفاده شود(۲۶).
اگزوزوم ها نانو وزیکل هایی با قطر ۴۰ تا ۱۵۰ نانومتر حاوی پروتیین, micRNA , RNA وDNA هستند. فعالیت ایمونولوژیک اگزوزوم ها سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی هر دو را تحت تاثیر قرار می دهد. که شامل ارائه انتی ژن, فعال کردن سلول های T , سرکوب ایمنی و فعالیت ضد التهابی می باشد. لذا اگزوزوم های مشتق شده از سلول های بنیادی مزانشیمی می توانند خواص درمانی مشابه سلول های بنیادی مزانشیمی را نشان داده و در کاهش التهاب و درمان عوارض بیماری اسکلروز سیستمیک موثر واقع شوند. ایمنی و بقای بیشتر نسبت سلول های بنیادی از مزایای این روش می باشد(۲۷،۲۸).
با توجه به این که سلول های بنیادی در اکثر بافت ها از جمله بافت های جنینی وجود دارند. بنابراین می توان از پلاسنتا برای بدست اوردن اگزوزوم های مشتق از سلول های بنیادی مزانشیمی برای مقاصد درمانی استفاده کرد(۱۳،۲۹).
با توجه به اهمیت بیماری اینتراستیشیال ریوی ناشی از بیماری اسکلروز سیستمیک و مورتالیتی بالای ان و نبود روش درمانی قطعی برای این عارضه, انجام مطالعات بیشتر جهت یافتن روش درمانی جدید ضروری به نظر می رسد و نتایج حاصل از این تحقیق می تواند در درمان این بیماران و بهبود علایم انها کمک کننده باشد.

۲–۵) بررسی متون (محل، سال، هدف، نوع و روش شناسی مطالعه، تعداد نمونه و نتایج مهم مرتبط با اهداف طرح پژوهشی حاضر ذکر شود.):

در مطالعه ای که در سال ۲۰۲۰ انجام شد. میزان تاثیر وزیکول های خارج سلولی مشتق شده از سلول های استرومال مزانشیمی در بهبود علایم اسکلرودرمی در مدل های حیوانی القاشده با HOCL مورد بررسی قرار گرفت و این تنیجه بدست امد که این فراورد ها در کاهش علایم پوستی و ریوی موثر بودند(۳۰).

در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۶ مدل های حیوانی (موش) اسکرودرمی تحت درمان با سلول های بنیادی مشتق شده از بافت چربی قرار گرفتند و نقش موثری در کاهش فیبروز ریه و پوست داشتند(۳۱) .

در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۷ این نتیجه بدست امد که اگزوزوم های مشتق شده از سلول های بنیادی مزانشیمی بدست امده از بافت چربی در پیشگیری از فیبروز کبدی موثر بودند(۳۲). اگرچه این مطالعه در بیماران اسکلرودرمی انجام نشده ولی شاید بتوان این اثر پیشگیری کننده از فیبروز را به فیبروز ناشی از اسکلرودرمی هم تعمیم داد.

در مطالعه بر روی مدل های حیوانی که در سال ۲۰۱۹ بر روی ۶ مدل حیوانی (موش) در مورد تاثیر اگزوزوم های مشتق شده از خون منس Menstrual blood-derived stem cells بر درمان فیبروز ایدیوپاتیک ریه انجام شد. نتایج بدست امده نشان دهنده موثر بودن انها در درمان فیبروز ریه بود(۳۳).

مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۸ بر روی مدل های حیوانی فیبروز ریه ایجاد شده به وسیله بلئومایسین موید اثرات انتی فیبروتیک اگزوزوم های مشتق شده از سلول های اپیتلیال امنیون بود(۳۴).

در مطالعه مروری در سال ۲۰۲۳ توسط Zhang و همکاران در مورد سلول های بنیادی مزانشیمی و اگزوزوم های انها بر روی بیماری اسکلروز سیستمیک و نتیجه گرفتند که اگزوزوم ها باعث بهبود عملکرد ریوی و کاهش فبیروز پوستی و سایر ارگان ها می شوند (۳۵)

در مطالعه ای که در سال ۲۰۲۲ در چین توسط Yu و همکاران بر روی مدل های موشی اسکلرودرمی جهت بررسی اثرات ضد فیبروتیک و ضد التهابی اگزوزوم های مشتق شده از سلول های بنیادی مزانشیمی بند ناف انجام شد نتایج مثبت بود (۳۶).

۲-۶) جنبه نوآوری و ضرورت انجام کارآزمایی بالینی:

(لازم است داوران محترم در این بخش بررسی های بیشتر را در قالب جستجوی الکترونیک به عمل آورند.)

الف ـ آیا در خصوص طرح مورد نظر، در سه سال اخیر مقاله مروری و متاآنالیز چاپ شده است؟
بله □ خیر ■

ب ـ در صورت چاپ مقالات مروری و متاآنالیز، با ذکر عنوان مقاله و سال چاپ، دلایل انجام مجدد مطالعه پیشنهادی فعلی توضیح داده شود.

ج- در صورت عدم چاپ مقالات مروری و متاآنالیز در خصوص مطالعه پیشنهادی، آیا تعداد کافی مقاله برای انجام یک مطالعه مرور سیستماتیک وجود دارد؟ خیر, در زمینه اثربخشی اگزوزوم تراپی بر روی فیبروز ریه بیماران اسکلروز سیستمیک مقالات کافی وجود ندارد.

۲-۷) تعریف علمی واژه های کلیدی (با ذکر منبع):

تعاریف نظری :

بیماری اسکلروز سیستمیک: اسکلروز سیستمیک بیماری خود ایمن سیستمیک با منشا ناشناخته می باشد که با پروسه فیبروزان پیشرونده که پوست و عروق و ارگان های داخلی را درگیر می کند, مشخص می شود(۲۲).

درگیری اینتراستیشیال ریوی (ILD): یکی از انواع درگیری ریوی ناشی از اسکلرودرمی است که بر اساس وجود فیبروز در سی تی اسکن ریوی (HRCT) و کاهش FVC در تست های عملکرد ریوی تشخیص داده می شود(۲۲).

اگزوزوم های مشتق از سلول های بنیادی مزانشیمی: اگزوزوم ها نانو وزیکل هایی با قطر ۴۰ تا ۱۵۰ نانومتر حاوی پروتیین, RNA , micRNA وDNA هستند. فعالیت ایمونولوژیک اگزوزوم ها سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی هر دو را تحت تاثیر قرار می دهد(۲۷،۲۸).

تعاریف عملی :

DMARD (disease modifying anti rheumatic drugs): گروهی از داروها هستند که در درمان بیمارهای روماتولوژی مثل آرتریت روماتویید و اسکروز سیستمیک و ... جهت اهسته کردن پیشرفت بیماری استفاده می شوند شامل سولفاسالازین , ازاتیوپرین , لفلونامايد و هیدروکسی کلروکین و مایکوفنولات موفتایل و ...

۲-۸) اهداف وفرضیات:

الف-هدف /اهداف اصلی: تعیین میزان اثربخشی اگزوزوم های مشتق شده از سلولهای بنیادی مزانشیمی پلاستنا بر بهبودعلایم فیبروز اینتراستیشیال ریه در بیماران اسکلروز سیستمیک

ب- اهداف ویژه یا اختصاصی:

تعیین درصد درگیری ریوی قبل و بعد از هر بار تزریق اگزوزوم

تعیین میزان تست های عملکرد ریه شامل FEV1, FVC, FEV1/FVC، سی تی اسکن ، پلاتیسموگرافی ،6MWT و DLCO در بیماران اسکلروز سیستمیک قبل و بعد از هر بارتزریق اگزوزوم

[M1]Comment: ؟؟؟؟؟

مقایسه ی درصد درگیری ریوی بین ۳ بار تزریق اگزوزوم

مقایسه ی میزان تستهای ریوی بین ۳ بار تزریق اگزوزوم

تعیین عوارض احتمالی درمان فیبروز اینتراستیشیال ریه ناشی از اسکلروز سیستمیک با اگزوزوم های مشتق شده از سلولهای بنیادی مزانشیمی پلاسنتا

[M2]Comment: میزان عوارض یا عوارض

ج- فرضیات پژوهشی:

درصد درگیری ریه قبل و بعد از هر بار تزریق چقدر است؟

میزان تستهای عملکرد ریوی قبل و بعد از هر بار تزریق چقدر است؟

عوارض احتمالی درمان با اگزوزوم در این بیماران چیست؟

فرضیات:

درصد درگیری ریوی در این سه زمان تزریق اگزوزوم متفاوت است.

میزان تستهای ریوی در این سه زمان متفاوت است.

[M3]Comment: ؟؟؟؟؟

د- اهداف کاربردی:

نتایج حاصل از این تحقیق می تواند در درمان بیماری اینتراستیشیال ریوی ناشی از بیماری اسکلروز سیستمیک و بهبود علایم ان کمک کننده باشد. و هدف این مطالعه ارائه روش درمانی جدید و موثر تر از درمان های رایج فعلی برای بیماران مبتلا به فیبروز پیشرفته ریه می باشد.

۳) روش اجرای طرح:

راهنمای نگارش روش اجرا براساس چک لیست CONSORT		
طراحی کارآزمایی	الف	توصیف طراحی مطالعه(مانند موازی، فاکتوریال) و نسبت تخصیص
	ب	تغییرات مهم در روش اجرا پس از شروع کارآزمایی(مانند معیارهای صلاحیت شرکت در مطالعه) با ذکر دلایل
شرکت کنندگان	الف	معیارهای صلاحیت شرکت افراد در مطالعه
	ب	بستر اجرای مطالعه و مکانهای جمع آوری اطلاعات
مداخلات	الف	نوع مداخله در هر گروه با ذکر کامل جزییات که امکان تکرار مطالعه فراهم شود شامل زمان و نحوه دقیق انجام مداخلات
پیامد ها	الف	توضیح کامل مقیاس های از پیش مشخص شده برای پیامد های اولیه و ثانویه مطالعه، شامل اینکه چگونه و در چه موقع مورد ارزیابی قرارخواهند گرفت.
	ب	هر گونه برنامه تغییر در پیامد های کارآزمایی پس از آغاز کارآزمایی، با ذکر دلایل
حجم نمونه	الف	چگونه حجم نمونه مشخص شده است
	ب	در صورت لزوم، توضیح هر گونه تجزیه و تحلیل موقت و و دستور العمل های توقف مطالعه
تصادفی سازی		
ایجاد توالی تصادفی	الف	روش مورد استفاده برای تولید توالی تخصیص تصادفی
	ب	نوع تصادفی سازی، جزییات هر گونه محدودیت (مانند بلوک کردن و اندازه بلوک)
روش پنهان سازی تخصیص شرکت کنندگان		مکانیسم مورد استفاده در تصادفی سازی تخصیص شرکت کنندگان (مانند ظروف شماره دار متوالی) و توضیح تمام اقدامات انجام شده در پنهان کردن توالی تا زمان اختصاص مداخله به هر گروه
اجرا		چه کسی توالی تخصیص تصادفی را مشخص می کند، چه کسی شرکت کنندگان را ثبت نام، و چه کسی شرکت کنندگان را به مداخلات تخصیص خواهد داد
کور سازی	الف	در صورت انجام، چه کسانی نسبت به مداخله کور سازی خواهند شد(به عنوان مثال، افراد تحت مطالعه، ارایه دهندگان خدمت و افرادی که نتایج را تحلیل می کنند) و کور سازی چگونه صورت خواهد گرفت
	ب	در صورت لزوم، ارائه توضیح در مورد تشابه مداخلات
روش های آماری	الف	روشهای آماری مورد استفاده در مقایسه گروهها (ITT) از نظر پیامد های اولیه و ثانویه
	ب	روشهای مورد استفاده درآنالیز های بیشتر، مانند آنالیز زیرگروهها (subgroup analyses) و آنالیز های تعدیل شده(adjusted analyses)

۳-۱)نوع طرح مطالعه:(یکی از انواع زیر را علامت بزنید.)

الف) موازی(parallel) ☐

ب) متقاطع(cross over) ☐

ج) فاکتوریال(factorial) ☐

این مطالعه یک مطالعه ی کارآزمایی بالینی یک بازویی است(single arm trial)

این طرح کارآزمایی برای مواقعی که سیر طبیعی یک بیماری کاملا شناخته شده و اثر پلاسبو در درمان بیماری اندک و یا وجود نداشته باشد مفید است و معمولا در انکولوژی از این نوع طراحی زیاد استفاده می شود در مواقعی که پیامد اولیه کاهش درصدی از سایز تومور باشد و حداقل کاهش مقداری از سایز تومور می تواند مفید باشد. در این بیماری هم هدف محقق می تواند با این نوع طراحی برآورد شود.

۳-۳) : اطلاعات مربوط به روش اجرای طرح : در این طرح بیماران مبتلا به بیماری اینتراستیشیال ریوی و فیبروز شدید ریوی در زمینه اسکلروز سیستمیک که به کلینیک های روماتولوژی مراجعه میکنند وارد مطالعه می شوند. معیار های ورود بیماران به مطالعه شامل این موارد می باشد: پر کردن کرایتریای تشخیصی کالج روماتولوژی امریکا (ACR) و کرایتریا EULAR2013 برای بیماری اسکلروز سیستمیک , ابتلا به بیماری اینتراستیشیال ریوی ثابت شده با سی تی اسکن قفسه سینه و تست های عملکرد ریوی, رضایت اگاهه بیمار برای ورود به مطالعه و تحت درمان قرار گرفتن با اگزوزوم های مشتق شده از سلول های بنیادی

معیارهای عدم ورود و خروج از مطالعه ابتلا به سایر بیماریهای خود ایمنی ، فشار خون بالای کنترل نشده ، دیابت و سایر اختلات اندوکرینی، نارسایی قلبی_ عروقی ، نارسایی مزمن کلیه ، اختلال عملکرد کبدی ، افسردگی ، وجود درگیریهای تهدید کننده زندگی شامل همولیز شدید پلاکت زیر ۴۰۰۰۰ ، بارداری و شیر دهی

ابتدا سلول های مزانشیمی با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری از نظر وجود و بیان مارکرهای مخصوص سطحی سلول های مزانشیمی مانند CD73، CD105، CD90، CD146، CD44و مارکر های خون ساز CD45، CD34 و HLA-DRو همچنین مارکر اندوتلیال CD31 مطالعه می شوند. سلول هایی که مارکر های سطحی سلولی مانند CD73، CD105، CD44مثبت و مارکر های سطحی سلولی مانند CD45، CD31، CD34 و HLA-DR منفی باشند، سلول های مزانشیمی در نظر گرفته می شوند(۹،۱۰). همچنین توانایی تمایز آن ها به رده های مزودرم از جمله استخوان با رنگ آمیزی Alizarin Red S، چربی با رنگ آمیزی Oil red-O و غضروف بر اساس پروتکل بررسی می شوند(۹). به منظور تمایز سلول های مزانشیمی به سمت استئوسیتها محیط شامل DMEM حاوی ۵۰ میکرومولار آسکوربیک اسید، ۱۰۰ نانومولار دگزامتازون و ۱۰ میلی مولار بتاگلیسرول فسفات بود که سلولها به مدت ۲۱ روز تحت تاثیر این محیط قرار گرفتند. سپس برای ارزیابی تمایز، رنگ آمیزی با آلیزارین رد به منظور تشخیص ذخایر کلسیمی صورت خواهد گرفت. به طور خلاصه برای رنگ آمیزی، ابتدا پس از تخلیه محیط رویی، سلولها با PBS شسته و با پارافرمالدئید ۴ درصد به مدت یک ساعت فیکس می شوند. سپس رنگ آلیزارین رد (۲ گرم پودر آلیزارین رد (USA, Sigma)در ۱۰۰ میلی لیتر آب حل و فیلتر گردید وpH آن در محدوده ۴/۳-۴/۱ تنظیم شد) به مدت ۳۰ دقیقه بر روی سلولها قرار می گیرد و پس از این مدت سلولها با PBS شسته و در زیر میکروسکوپ مشاهده می شوند. کلیه مواد مورد استفاده در تمایز و ارزیابی آنها از شرکت (USA , Sigma) تهیه خواهد شد(۱۱). همچنین محیط تمایز به سمت آدیپوسیتها، شامل DMEM حاوی ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر آسکوربیک اسید، ۱۰ نانومولار دگزامتازون و ۶۰ میکرومولار ایندومتاسین بود که سلولها به مدت ۲۱ روز تحت القای این محیط قرار خواهندگرفت. جهت ارزیابی تمایز، رنگ آمیزی O Red Oil به منظور تشخیص واکوئلهای چربی انجام خواهد شد. برای این رنگ آمیزی ابتدا فلاسک رو با PBS شستشو می دهیم. ۴ میلی لیتر فرمالین ۱۰٪ را اضافه می کنیم و برای ۱۰ دقیقه در دمای اتاق می گذاریم. فرمالین را دور ریخته و فرمالین جدید اضافه می کنیم. فرمالین را با پیپت دور ریخته و با ۴ میلی لیترآب دیونیزه شستشو می دهیم. سلول ها را با ایزوپروپانول ۶۰ درصد ۵ دقیقه شستشو داده تا کاملا خشک شوند. ۰/۳۶گرم پودر رنگ O-Red-Oil را اضافه کرده و ۱۰ دقیقه زمان می دهیم. رنگ را دور ریخته و آنگاه پس از شست وشو، در زیر میکروسکوپ مشاهده خواهند شد(۱).

بعد از انجام آنالیزهای لازم برای عدم وجود آلودگی سلولی (اندتوکسین و مایکوپلاسما) و آنالیز کروموزومی جهت اطمینان از عدم جهش یا تمایز سلولی، محیط القا شده (Conditioned medium) سلول ها پس از ۴۸ ساعت از کشت در محیط فاقد سرم، جمع آوری می شوند. لازم به ذکر است جهت تهیه هر دوز اگزوزوم مقدار حداقل ۴۰ تا ۶۰ میلیون سلول نیاز می باشد و در مراحل آماده سازی سلول از جداسازی تا پاساژ نهایی به ازای هر سی سی محیط کشت سلولی مقدار ۲ نانوگرم در هر میلی لیتر EGF و مقدار۲ نانوگرم در هر میلی لیتر bFGF لازم است ،که جهت آماده سازی سلول ها به مقدار خیلی زیاد برای پاساژ بین ۵-۸ لازم و ضروری می باشند.

سنجش کنترل کمی اگزوزوم ها توسط دو روش انجام می شود(۲،۳). سایز اگزوزوم ها توسط تکنیک پراکندگی نور پویا(۴) (DLS) و همچنین فلوسایتومتری ، وسترن بلات و میکروسکوپ الکترونی عبوری تأیید می شوند(۵). ویژگی اگزوزوم ها از لحاظ حضور مارکر های سطحی پروتئینی توسط روش وسترن بلات بررسی خواهد شد(۶–۸). بدین ترتیب از آنتی بادی های اولیه Tsg101، CD9، CD63، CD81، HSP70، Notch4، GAPDH،CD40 و ARF6 برای شناسایی و تایید مارکر های پروتئینی اگزوزوم ها و همچنین افتراق آن ها از میکروویزیکول های دیگر استفاده و از طریق کمولومینسانس سیگنال ها توسط BioRad ChemiDoc ثبت می گردد. نهایتا باندها بر اساس تعداد اگزوزوم ها نرمالایز می شوند(۳،۶،۹).

به منظور افتراق اگزوزوم ها از آنجا که قطر وزیکول های اگزوزومی ۱۴۰-۷۰nm می باشند به منظور استرلیزه کردن و همچنین برداشتن وزیکول های اگزوزومی بزرگ محیط کشت قبل اولتراسانتریفوژ از غشاء فیلتر ۰/۲ µm عبور داده می شود(۱۰،۱۱). برای هر نمونه محلول حاوی اگزوزوم ها در ۵۰۰g سانتریفوژ و محلول رویی جمع آوری شده با نسبت ۱:۲ با PBS رقیق شده و مجددا در دور ۱۲۰۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ خواهد شد. پروسه فیلتراسیون اگزوزوم ها به منظور جداسازی وزیکول های خارج سلولی (EVs) و Apoptotic bodies از اگزوزوم های مورد نظر می باشد (۲۰-۱۶). جداسازی وزیکول های خارج سلولی بزرگ محیط کشت (EVs) از اگزوزوم های مورد نظر، به این ترتیب که محلول رویی بدست آمده فیلتر (۰/۲ µm) و سپس با نسبت ۱:۵ با PBS رقیق و در g ۱۲۰۰۰۰ به مدت ۷۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد اولترا

سانتریفوژ خواهد شد. رسوب اگزوزوم بدست آمده در ۱۰۰µL محلول PBS محلول می شود(۱۲–۱۴). میزان دوز حاصل از وزیکول های اگزوزومی بدست آمده از $۱۰^{۷}$×۶-۴ سلول های مزانشیمی به عنوان یک unit در نظر گرفته می شوند. یک واحد یا یک دوز طبق ویالهای شرکت Exoflo تولید کننده اگزوزوم تزریقی $۱۰^{۱۱}$×۱/۵ particles/unit می باشد و بر طبق ویالهای شرکت سازنده Zofin هر ویال برابر $۱۰^{۱۱}$×۳ particles/unit است. اما طبق تجربیات کارآزمایی بالینی که این تیم در تزریق اگزوزوم در بیماران مبتلا به دیسترس تنفسی کرونا و مقالات مرتبط دوز بین $۱۰^{۱۱}$ ×۳-۲/۵ particles/unit قابل قبول است (۱۵–۲۰). بر طبق پروتکل های شرکت هایی که تولید کننده اگزوزوم می باشند همانند Exoflo و Zofin رسوب اگزوزوم در ۱۰۰ میکرولیتر PBS سوسپانسیونه می گردد و تا موقع استفاده در $۸۰^{\circ}C$- فریز می گردد. سپس موقع تزریق در ۱۰۰ سی سی سرم فیزیولوژیک قابل تزریق حل و با سرعت ۲ ml/min تزریق می گردد (۶،۱۲–۱۴).

میزان درصد درگیری ریوی ناشی از ILD بر اساس یافته های سی تی اسکن ریوی حساب می شود. و نتیجه تست های عملکرد ریوی و اسپیرومتری شامل FEV1, FVC, FEV1/FVC و DLCO و SMWT (six minute walk test) برای هر بیمار ثبت می شود. سپس بیماران مبتلا به بیماری اینتراستیشیال ریوی ناشی از اسکروز سیستمیک تحت درمان با اگزوزوم های مشتق شده از سلول های بنیادی مزانشیمی قرار می گیرند. تزریق اگزوزوم در سه جلسه به فاصله دو هفته انجام می شود. قبل و بعد از تزریق اگزوزوم سی تی اسکن قفسه سینه و تست های عملکرد ریوی و اسپیرومتری انجام می شود. و نتایج حاصل از درمان بر اساس بهبود علایم بالینی و یافته های تصویر برداری و نتیجه تست های عملکرد ریه و DLCO و SMWT (six minute walk test) بررسی و تحلیل می شود. میزان درصد درگیری ریوی و نتایج تست های FEV1, FVC, FEV1/FVC و DLCO و SMWT (six minute walk test) قبل و بعد از درمان با اگزوزم مقایسه می شود. از آنجا که درمان قطعی برای این بیماری وجود ندارد و تغییر درصد درگیری و پاسخ به درمان بسیار اهمیت دارد با روش کارآزمایی بالینی یک بازویی می توان تغییرات و پاسخ به درمان را بررسی نمود.

اینترونشن و درمان استاندارد برای فیبروز ریه ناشی از اسکلروز سیستمیک درمان هایی نظیر سیکلوفسفامايد و مایکوفنولات موفتایل می باشد. بیمارانی که در طرح حاضر شرکت داده می شوند

کسانی هستند که قبلا تحت درمان های استاندارد و رایج قرار گرفته اند و به این درمان ها پاسخ نداده اند. لذا در طرح حاضر هیچ بیماری از درمان استاندارد محروم نمی شود.
در سی تی اسکن های ریه جدید معمولا از اشعه با دوز پایین استفاده می شود. در طرح حاضر هم از سی تی اسکن با دوز پایین استفاده خواهد شد. حداکثر دوز مجاز اشعه برای سی تی اسکن در حال حاضر سه میلی سیورت می باشد ولی می توان میزان اشعه را به یک و نیم میلی سیورت هم رساند که کمترین میزان اشعه به بیمار وارد شود. لازم به ذکر است سی تی اسکن با دوز پایین در موارد دیگری مثل اسکرینینگ افراد سیگاری برای یافتن کانسر ریه هم استفاده می شود. لذا میزان اشعه ای که بیما در این طرح دریافت میکند بیشتر از حالت معمول نیست و قابل قبول است.
تصاویر سی تی اسکن ریه در دو فاز دمی سوپاین و پرون گرفته می شود. ضایعات خفیف قواعد ریه ها و نواحی ساب پلورال در پوزیشن سوپاین ممکنه است با فیبروز اشتباه شود ولی در پوزیشن پرون بهتر مشخص می شوند.
با توجه به سیستمیک بودن پروسه بیماری عموما درگیری فیبروز ریوی دوطرفه است نه یکطرفه و در این طرح نظر و ریپورت رادیولوژیست ملاک عمل برای تعیین شدت فیبروز ریه و کوانتیفیکاسیون است.

Comment [M۴]: در بندهای بعدی تکرار شده اند.

الف) نسبت تخصیص: از آنجا که نوع طرح single arm trial می باشد نسبت تخصیص نیاز نیست

ب) جمعیت مورد مطالعه و معیارهای ورود و خروج:
جامعه مورد مطالعه بیماران اسکلروز سیستمیک (ده بیمار) مبتلا به ILD مراجعه کننده به کلینیک های روماتولوژی شهر کرمانشاه هستند.
معیار های ورود بیماران به مطالعه شامل این موارد می باشد: پر کردن کرایتریای تشخیصی کالج روماتولوژی امریکا (ACR) و کرایتریا EULAR2013 برای بیماری اسکلروز سیستمیک , ابتلا به بیماری اینتراستیشیال ریوی ثابت شده با سی تی اسکن قفسه سینه و تست های عملکرد ریوی, رضایت اگاهه بیمار برای ورود به مطالعه و تحت درمان قرار گرفتن با اگزوزوم های مشتق شده از سلول های بنیادی

معیارهای عدم ورود و خروج از مطالعه ابتلا به سایر بیماریهای خود ایمنی ، فشار خون بالای کنترل نشده ، دیابت و سایر اختلات اندوکرینی، نارسایی قلبی_ عروقی ، نارسایی مزمن کلیه ، اختلال عملکرد کبدی ، افسردگی ، وجود درگیریهای تهدید کننده زندگی شامل همولیز شدید پلاکت زیر ۴۰۰۰۰ ، بارداری و شیر دهی

ج)شرایط و محل انجام مطالعه: محل انجام طرح بیمارستان امام رضا کرمانشاه می باشد. بیماران جهت اگزوزوم تراپی در این مرکز بستری می شوند و اطلاعات لازم جهت مطالعه ثبت می شود. و سپس بیماران ۴-۶ هفته بعد در کلینیک های روماتولوژی جهت بررسی پاسخ به درمان بررسی می شوند.

د)جزییات مداخله (شامل: ماهیت، مقداریا دوز ، نوع اعمال و..): ابتدا سلول های مزانشیمی با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری از نظر وجود و بیان مارکرهای مخصوص سطحی سلول های مزانشیمی مانند CD73 ، CD105، CD90، CD146 ، CD44 و مارکر های خون ساز CD45، CD34 و HLA-DRو همچنین مارکر اندوتلیال CD31 مطالعه می شوند. سلول هایی که مارکر های سطحی سلولی مانند CD73، CD105، CD44 مثبت و مارکر های سطحی سلولی مانند CD45، CD31، CD34 و HLA-DR منفی باشند، سلول های مزانشیمی در نظر گرفته می شوند(۹،۱۰). همچنین توانایی تمایز آن ها به رده های مزودرم از جمله استخوان با رنگ آمیزی Alizarin Red S، چربی با رنگ آمیزی Oil red-O و غضروف بر اساس پروتکل بررسی می شوند(۹). به منظور تمایز سلول های مزانشیمی به سمت استئوسیتها محیط شامل DMEM حاوی ۵۰ میکرومولار آسکوربیک اسید، ۱۰۰ نانومولار دگزامتازون و ۱۰ میلی مولار بتاگلیسرول فسفات بود که سلولها به مدت ۲۱ روز تحت تاثیر این محیط قرار گرفتند. سپس برای ارزیابی تمایز، رنگ آمیزی با آلیزارین رد به منظور تشخیص ذخایر کلسیمی صورت خواهد گرفت. به طور خلاصه برای رنگ آمیزی، ابتدا پس از تخلیه محیط رویی، سلولها با PBS شسته و با پارافرمالدئید ۴ درصد به مدت یک ساعت فیکس می شوند. سپس رنگ آلیزارین رد (۲ گرم پودر آلیزارین رد (USA, Sigma)در ۱۰۰ میلی لیتر آب حل و فیلتر گردید و pH آن در محدوده ۴/۳-۴/۱ تنظیم شد) به مدت ۳۰ دقیقه بر روی سلولها قرار می گیرد و پس از این مدت سلولها با PBS شسته و در زیر میکروسکوپ مشاهده می شوند. کلیه مواد مورد استفاده در تمایز و ارزیابی آنها از شرکت (USA , Sigma) تهیه خواهد شد(۱۱). همچنین محیط تمایز به سمت آدیپوسیتها،

شامل DMEM حاوی ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر آسکوربیک اسید، ۱۰ نانومولار دگزامتازون و ۶۰ میکرومولار ایندومتاسین بود که سلولها به مدت ۲۱ روز تحت القای این محیط قرار خواهندگرفت. جهت ارزیابی تمایز، رنگ آمیزی O Red Oil به منظور تشخیص واکوئلهای چربی انجام شد. برای این رنگ آمیزی ابتدا فلاسک رو با PBS شستشو می دهیم. ۴ میلی لیتر فرمالین ۱۰٪ را اضافه می کنیم و برای ۱۰ دقیقه در دمای اتاق می گذاریم. فرمالین را دور ریخته و فرمالین جدید اضافه می کنیم. فرمالین را با پیپت دور ریخته و با ۴ میلی لیترآب دیونیزه شستشو می دهیم. سلول ها را با ایزوپروپانول ۶۰ درصد ۵ دقیقه شستشو داده تا کاملا خشک شوند. ۰/۳۶گرم پودر رنگ O-Red-Oil را اضافه کرده و ۱۰ دقیقه زمان می دهیم. رنگ را دور ریخته و آنگاه پس از شست وشو، در زیر میکروسکوپ مشاهده خواهند شد(۱۱).

بعد از انجام آنالیزهای لازم برای عدم وجود آلودگی سلولی (اندتوکسین و مایکوپلاسما) و آنالیز کروموزومی جهت اطمینان از عدم جهش یا تمایز سلولی، محیط القا شده (Conditioned medium) سلول ها پس از ۴۸ ساعت از کشت در محیط فاقد سرم، جمع آوری می شوند. لازم به ذکر است جهت تهیه هر دوز اگزوزوم مقدار حداقل ۴۰ تا ۶۰ میلیون سلول نیاز می باشد و در مراحل آماده سازی سلول از جداسازی تا پاساژ نهایی به ازای هر سی سی محیط کشت سلولی مقدار ۲ نانوگرم در هر میلی لیتر EGF و مقدار۲ نانوگرم در هر میلی لیتر bFGF لازم است ،که جهت آماده سازی سلول ها به مقدار خیلی زیاد برای پاساژ بین ۵-۸ لازم و ضروری می باشند.

سنجش کنترل کمی اگزوزوم ها توسط دو روش انجام می شود(۱۲،۱۳). سایز اگزوزوم ها توسط تکنیک پراکندگی نور پویا(۱۴) (DLS) و همچنین فلوسایتومتری ، وسترن بلات و میکروسکوپ الکترونی عبوری تأیید می شوند(۱۵). ویژگی اگزوزوم ها از لحاظ حضور مارکر های سطحی پروتئینی توسط روش وسترن بلات بررسی خواهد شد(۱۶–۱۸). بدین ترتیب از آنتی بادی های اولیه Tsg101، CD9، CD63، CD81، HSP70، Notch4، GAPDH،CD40 و ARF6 برای شناسایی و تایید مارکر های پروتئینی اگزوزوم ها و همچنین افتراق آن ها از میکرووزیکول های دیگر استفاده و از طریق کمولومینسانس سیگنال ها توسط BioRad ChemiDoc ثبت می گردد. نهایتا باندها بر اساس تعداد اگزوزوم ها نرمالایز می شوند(۹،۱۳،۱۶).

به منظور افتراق اگزوزوم ها از آنجا که قطر وزیکول های اگزوزومی ۱۴۰-۷۰nm می باشند به منظور استرلیزه کردن و همچنین برداشتن وزیکول های اگزوزومی بزرگ محیط کشت قبل اولتراسانتریفوژ از غشاء فیلتر ۰/۲ µm عبور داده می شود(۱۹،۲۰). برای هر نمونه محلول حاوی اگزوزوم ها در ۵۰۰g سانتریفوژ و محلول رویی جمع آوری شده با نسبت ۱:۲ با PBS رقیق شده و مجددا در دور ۱۲۰۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ خواهد شد. به منظور افتراق اگزوزوم ها از آنجا که قطر وزیکول های اگزوزومی ۱۴۰-۷۰nm می باشند به منظور استرلیزه کردن و همچنین برداشتن وزیکول های خارج سلولی بزرگ محیط کشت قبل از مرحله اولترا سانتریفوژ از غشاء فیلتر ۰/۲ µm عبور داده می شود. پروسه فیلتراسیون اگزوزوم ها به منظور جداسازی وزیکول های خارج سلولی (EV_S) و Apoptotic bodies از اگزوزوم های مورد نظر می باشد (۲۰-۱۶). جداسازی وزیکول های خارج سلولی بزرگ محیط کشت (EV_S) از اگزوزوم های مورد نظر، به این ترتیب که محلول رویی بدست آمده فیلتر (۰/۲ µm) و سپس با نسبت ۱:۵ با PBS رقیق و در ۱۲۰۰۰۰ g به مدت ۷۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد اولترا سانتریفوژ خواهد شد. رسوب اگزوزوم بدست آمده در ۱۰۰µL محلول PBS محلول می شود(۲۱–۲۳). میزان دوز حاصل از وزیکول های اگزوزومی بدست آمده از $۱۰^{۷}$×۶-۴ سلول های مزانشیمی به عنوان یکunit در نظر گرفته می شوند. یک واحد یا یک دوز طبق ویالهای شرکت Exoflo تولید کننده اگزوزوم تزریقی particles/unit $۱۰^{۱۱}$×۱/۵ می باشد و بر طبق ویالهای شرکت سازنده Zofin هر ویال برابر particles/unit $۱۰^{۱۱}$×۳ است. اما طبق تجربیات کارآزمایی بالینی که این تیم در تزریق اگزوزوم در بیماران مبتلا به دیسترس تنفسی کرونا و مقالات مرتبط دوز بین particles/unit $۱۰^{۱۱}$ ×۳-۲/۵ قابل قبول است (۲۴–۲۹). بر طبق پروتکل های شرکت هایی که تولید کننده اگزوزوم می باشند همانند Exoflo و Zofin رسوب اگزوزوم در ۱۰۰ میکرولیتر PBS سوسپانسیونه می گردد و تا موقع استفاده در $۸۰^{\circ}C$- فریز می گردد. سپس موقع تزریق در ۱۰۰ سی سی سرم فیزیولوژیک قابل تزریق حل و با سرعت ۲ ml/min تزریق می گردد (۱۶،۲۱–۲۳).

قبل و بعد از تزریق اگزوزوم سی تی اسکن قفسه سینه و تست های عملکرد ریوی و اسپیرومتری انجام می شود.

ه)پیامدهای اولیه و یا ثانویه: پیامد اولیه احتمالی بهبود علایم بالینی و یافته های تصویر برداری ناشی از فیبروز ریه بعد از چند هفته از درمان می باشد. و پیامد ثانویه خاصی برای این روش درمانی گزارش نشده است.

و) حجم نمونه: (فرمول حجم نمونه متناسب با هدف و طرح مطالعاتی، اجزا ورودی و نحوه محاسبه صحیح ذکر شود) با توجه به اینکه این روش درمانی برای اولین بار انجام می شود و توان محقق بیشتر از ورود ۱۰ نفر از بیماران نیست لذا این کارآزمایی بالینی با تعداد ثابت (single arm design) اجرا خواهد شد.

جامعه مورد مطالعه ۱۰ نفر از بیماران اسکلروز سیستمیک مبتلا به فیبروز شدید ریه می باشد .

[M۵Comment]: فقط ۱۰ بیمار دارند؟؟

ز) جزئیات روش تصادفی سازی (روش تصادفی سازی چیست ،چه کسی توالی تصادفی را تولید، چه کسی افراد را ثبت نام، چه کسی افراد را به مداخله (ها) تخصیص می دهد و آیا مکانیسمی برای پنهان کردن تصادفی سازی وجود دارد؟)

از آنجا که طراحی مطالعه به صورت single arm می باشد نیازی به تصادفی سازی نیست.

پزشکان فوق تخصص روماتولوژی و ریه شرکت کننده در طرح افراد را برای ورود به طرح ثبت نام می کنند.

ح)کورسازی ، جزییات و سطوح آن: مطالعه تک سو کور می باشد. عواملی که باعث منحرف شدن نتیجه ازمایش و مطالعه می شوند از دید شرکت کنندگان مخفی می مانند.

[M۶Comment]: چطور ؟؟؟؟

ط) شرایط جمع آوری داده ها (روش جمع آوری،چه کسی اطلاعات را جمع آوری می کند؟ محقق یا فرد دیگری، ویزیت افراد در کجا اتفاق می افتد؟):

بیماران جهت درمان اگزوزوم تراپی در بیمارستان امام رضا کرمانشاه بستری و ویزیت می شوند. و اطلاعات لازم توسط محققان طرح گرداوری و ثبت می شود. سپس بیماران ۴-۶ هفته بعد در کلینیک های روماتولوژی جهت بررسی پاسخ به درمان بررسی می شوند.

ی) ابزار گردآوری داده ها (یک نمونه از فرم ضمیمه گردد):

۱ـ پرسشنامه ☐ **۲ـ مصاحبه** ☐ **۳ـ مشاهده** ☐ **۴ـ معاینات بالینی** ☐
۵ـ چک لیست ☐ **۶ـ مدارک مستند (پرونده...)** ■ **۷ـ موارد دیگر ذکر شود:**

در صورت استفاده از پرسشنامه و ابزارهای تشخیصی سوابق مربوط به روایی و پایایی ذکر شود:

۳-۴) جدول متغیرها:

ردیف	نام متغیر	مقیاس	نقش	تعریف عملی	واحد
1	نوع بیماری اسکلرودرمی	اسمی	مستقل	نوع بیماری تشخیص داده شده برای هر فرد بر اساس معیار های ACR	اسکلرودرمی محدود یا منتشر
2	سن بیماران	کمی پیوسته	مستقل	سن تقویمی هر بیمار	سال
3	جنس بیماران	اسمی	مستقل	جنس بیماران	زن یا مرد
4	نوع داروهای مصرفی بیماران	اسمی	مستقل	داروهایی که قبل از شرکت در مطالعه بیمار در حال مصرف ان ها بوده	پردنیزولون هیدروکسی کلروکین DMARD بیولوژیک
5	دوز داروهای مصرفی	کمی گسسته	مستقل	مقدار مصرفی داروها	میلی گرم
6	نوع درمان دریافت شده در طی مطالعه	اسمی	مستقل	درمان اگزوزوم تراپی	اگزوزوم تراپی
7	عوارض پس از درمان	اسمی	وابسته	عوارض ایجاد شده در روز های پس از تزریق اگزوزوم	تب تنگی نفس سرفه راش اسهال

[M7Comment]: متغیر های ذکر شده با اهداف هماهنگی ندارند.
متغیر های ۱ تا ۶ که به عنوان متغیر مستقل ذکر شده اند در اهداف نیامده اند.
زمان اندازه گیری ها هم ذکر نشده است.

[M8Comment]: این متغیری مداخله گر می باشد نه مستقل.

[M9Comment]: وقتی همه یک درمان را دریافت کرده اند متغیر نمی باشد.

[M10Comment]: (تب، تنگی نفس، سرفه، راش و اسهال) هرکدام به تفکیک ذکر شوند

[M11Comment]: بله-خیر

۸	پاسخ به درمان	اسمی	وابسته	تاثیر درمان باآگزوزوم در درمان فیبروز ریه	بهبودی یا عدم بهبودی
۹	میزان درگیری ریوی قبل و بعد درمان	کمی پیوسته	وابسته	میزان در صد درگیری ریوی بر اساس سی تی اسکن ریه	درصد ۰ تا ۱۰۰
۱۰	متغییر های اسپیرومتری	کمی پیوسته	وابسته	نتیجه تست های FEV1, FVC. FEV1/FVC	مقدار به عدد
	متغییر های DLCO	کمی پیوسته	وابسته	نتیجه تست هایDLCO	درصد ۰ تا ۱۰۰
	متغییر های پل تیسموگرافی	کمی پیوسته	وابسته	نتیجه تست های پلاتیسموگرافی	درصد ۰ تا ۱۰۰

[M[۱۲Comment: هرکدام به تفکیک ذکر شوند

[M[۱۳Comment: هرکدام به تفکیک ذکر شوند

[M[۱۴Comment: هرکدام به تفکیک ذکر شوند

***مقیاس: کمی، رتبه‌ای، اسمی.**

#نقش: مستقل، وابسته، اصلی، زمینه‌ای، مخدوشگر، و سایر.

۳-۵) تجزیه وتحلیل داده‌ها: (تحلیل استاندارد ITT، تجزیه و تحلیل موقت،ذکر نرم افزار، روش پردازش داده ها، آزمون های آماری)

[M[۱۵Comment: **برای متغیر عوارض چه آزمونی مدنظر قرار می گیرد؟**

برای هر نمونه کد خاصی در نرم افزار اکسل طراحی می شود و تمام اطلاعات بدست امده مربوط به نمونه از جمله سن , جنس , نوع بیماری اسکلرودرمی . نوع داروها و نوع درمان دریافتی در طی مطالعه شامل اگزوزوم تراپی و عوارض احتمالی و درصد درگیری ریوی و نتیجه تست های عملکرد ریه قبل و بعد درمان و ..... در ان ثبت خواهد شد. اطلاعات وارد نرم افزارspss خواهد شد. اطلاعات کیفی با درصد و فراوانی و کمی با میانگین و انحراف معیار توصیف خواهند شد. رویکرد تحلیل تحلیل به قصد درمان (ITT خواهد بود.) برای مقایسه ی درصد درگیری ریه و تستها در سه بار اندازه گیری از آنالیز واریانس در تکرار مشاهدات و در صورت عدم پیروی متغیرها از توزیع نرمال از آزمون فریدمن استفاده خواهد شد.

۳-۶) ملاحظات اخلاقی(رضایت نامه به زبان ساده ضمیمه گردد):

ورود بیماران به مطالعه پس از کسب رضایت اگاهانه انان خواهد بود و مشخصات فردی بیماران از جمله نام بیماران ,شماره تماس و ...درج نمی شود.

۳-۷) محدودیت‌ها: (ذکرمشکلات و محدودیت‌های احتمالی در اجرای طرح و روش کاهش آنها)

از جمله محدودیت های این طرح محدودیت دسترسی به بیماران با توجه به شیوع بسیار کم بیماری اسکلرودرمی در جامعه می باشد. و همچنین هزینه زیاد تهیه اگزوزوم که از طریق بودجه خارج بیمارستان رفع خواهد شد.

۳-۸) مدت زمان لازم برای اجرای طرح (به ماه):

۱۲ ماه

۳-۹) جدول گانت: شرح مرحله‌ای فعالیت‌ها و پیش بینی مدت زمان اجرای آن به ماه ، به ترتیب اجرا

نوع فعالیت	فرد مسئول	مدت	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
انتخاب و معرفی بیماران	دکتر عصار و دکتر پورنظری	۱ ماه	■											
انجام و تفسیر تست اسپیرومتری و تست SMWT	دکتر حسنی نیا و دکتر محمدزاده	۱ ماه		■										
اجرای روش درمانی روی بیماران و تهیه اگزوزوم و انجام کارهای ازمایشگاهی	دکتر منصوری و دکتر مصطفایی و سماواتی و نوروزنژاد و دکتر یارانی و حیدر پور و کیانی و حسینخانی	۶ ماه			■	■	■	■	■	■				
تفسیر سی تی اسکن قبل و بعد درمان	دکتر صالحی و دکتر شبیری				■	■	■	■	■	■				
تجزیه و تحلیل داده ها و رفع اشکالات احتمالی	دکتر عصار و دکتر پورنظری و محمدزاده	۲ ماه									■	■		
ارایه گزارش نهایی	دکتر منصوری و دکتر عصار و محمدزاده	۲ ماه											■	■

۳-۱۰) منابع ومأخذ: براساس سبک ونکوور(References)

1. Benayahu D, Akavia UD, Shur I. Differentiation of bone marrow stroma-derived mesenchymal cells. Curr Med Chem. 2007;14(2):173–9.
2. Mathieu G, Williams-Jones B. Examining the National Regulatory Environment of Medical Devices: major issues in the risk-benefit assessment of high-risk devices. McGill JL Heal. 2015;9:17.
3. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. J Extracell vesicles. 2018;7(1):1535750.
4. Bachurski D, Schuldner M, Nguyen P-H, Malz A, Reiners KS, Grenzi PC, et al. Extracellular vesicle measurements with nanoparticle tracking analysis–An accuracy and repeatability comparison between NanoSight NS300 and ZetaView. J Extracell vesicles. 2019;8(1):1596016.
5. Ma L, Zhu S, Tian Y, Zhang W, Wang S, Chen C, et al. Label-free analysis of single viruses with a resolution comparable to that of electron microscopy and the throughput of flow cytometry. Angew Chemie Int Ed. 2016;55(35):10239–43.
6. Chettimada S, Lorenz DR, Misra V, Dillon ST, Reeves RK, Manickam C, et al. Exosome markers associated with immune activation and oxidative stress in HIV patients on antiretroviral therapy. 2018;(September 2017):1–16.
7. Ha DH, Kim H, Lee J, Kwon HH, Park G, Yang SH, et al. Skin Regeneration. 2020;4–6.
8. D KHP, D TVM, Dordevic M. Exosome Origins : Why the Cell Source Matters Stem Cell & Regenerative Medicine Exosome Origins : Why the Cell Source Matters. 2020;(February).
9. Pelekanos RA, Sardesai VS, Futrega K, Lott WB, Kuhn M, Doran MR. Isolation and Expansion of Mesenchymal Stem / Stromal Cells Derived from Human Placenta Tissue. 2016;(June):1–13.
10. Nguyen DG, Booth A, Gould SJ, Hildreth JEK. Evidence that HIV budding in primary macrophages occurs through the exosome release pathway. J Biol Chem. 2003;278(52):52347–54.
11. Kimpton CP, Corbitt G, Morris DJ. Comparison of polyethylene glycol precipitation and ultracentrifugation for recovery of cytomegalovirus from urine prior to detection of DNA by dot-blot hybridisation. J Virol Methods. 1990;28(2):141–5.

12. Rider MA, Hurwitz SN, Meckes Jr DG. ExtraPEG: a polyethylene glycol-based method for enrichment of extracellular vesicles. Sci Rep. 2016;6:23978.

13. Baranyai T, Herczeg K, Onódi Z, Voszka I, Módos K, Marton N, et al. Isolation of exosomes from blood plasma: qualitative and quantitative comparison of ultracentrifugation and size exclusion chromatography methods. PLoS One. 2015;10(12):e0145686.

14. Marimpietri D, Petretto A, Raffaghello L, Pezzolo A, Gagliani C, Tacchetti C, et al. Proteome profiling of neuroblastoma-derived exosomes reveal the expression of proteins potentially involved in tumor progression. PLoS One. 2013;8(9):e75054.

15. Ringden O, Le Blanc K. Mesenchymal stem cells for treatment of acute and chronic graft-versus-host disease, tissue toxicity and hemorrhages. Best Pract Res Clin Haematol. 2011;24(1):65–72.

16. Mitrani MI, Bellio MA, Sagel A, Saylor M, Kapp W, VanOsdol K, et al. Case Report: Administration of Amniotic Fluid-Derived Nanoparticles in Three Severely Ill COVID-19 Patients. Front Med. 2021;8:242.

17. Jamalkhah M, Asaadi Y, Azangou-Khyavy M, Khanali J, Soleimani M, Kiani J, et al. MSC-derived exosomes carrying a cocktail of exogenous interfering RNAs an unprecedented therapy in era of COVID-19 outbreak. J Transl Med. 2021;19(1):1–15.

18. Chen Y-S, Lin E-Y, Chiou T-W, Harn H-J. Exosomes in clinical trial and their production in compliance with good manufacturing practice. Tzu-Chi Med J. 2019;32(2):113.

19. Sengupta V, Sengupta S, Lazo A, Woods P, Nolan A, Bremer N. Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells as treatment for severe COVID-19. Stem Cells Dev. 2020;29(12):747–54.

20. Lim SK, Giebel B, Weiss DJ, Witwer KW, Rohde E. Re:“Exosomes Derived from Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells as Treatment for Severe COVID-19” by Sengupta et al. Stem Cells Dev. 2020;29(14):877–8.

21. Gabrielli A, Avvedimento E V, Krieg T. Scleroderma. N Engl J Med. 2009;360(19):1989–2003.

22. Iudici M, Moroncini G, Cipriani P, Giacomelli R, Gabrielli A, Valentini G. Where are we going in the management of interstitial lung disease in patients with systemic sclerosis? Autoimmun Rev. 2015;14(7):575–8.

23. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Goldin J, Roth MD, Furst DE, et al. Cyclophosphamide versus placebo in scleroderma lung disease. N Engl J Med. 2006;354(25):2655–66.

24. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Roth MD, Furst DE, Silver RM, et al. Effects of 1-year treatment with cyclophosphamide on outcomes at 2 years in scleroderma

lung disease. Am J Respir Crit Care Med. 2007;176(10):1026–34.

25. Clements P, Tashkin D, Roth M, Khanna D, Furst D, Tseng C, et al. The Scleroderma Lung Study II (SLS II) Shows That Both Oral Cyclophosphamide (CYC) and Mycophenolate Mofitil (MMF) Are Efficacious in Treating Progressive Interstitial Lung Disease (ILD) in Patients with Systemic Sclerosis (SSc): Abstract Number: 1075. Arthritis Rheumatol. 2015;67:1401–3.

26. Binks M, Passweg JR, Furst D, McSweeney P, Sullivan K, Besenthal C, et al. Phase I/II trial of autologous stem cell transplantation in systemic sclerosis: procedure related mortality and impact on skin disease. Ann Rheum Dis. 2001;60(6):577–84.

27. Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, Liejendekker R, Harding C V, Melief CJ, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. J Exp Med. 1996;183(3):1161–72.

28. Colletti M, Galardi A, De Santis M, Guidelli GM, Di Giannatale A, Di Luigi L, et al. Exosomes in systemic sclerosis: messengers between immune, vascular and fibrotic components? Int J Mol Sci. 2019;20(18):4337.

29. Chang C, Yen M, Chen Y, Chien C, Huang H, Bai C, et al. Placenta-derived multipotent cells exhibit immunosuppressive properties that are enhanced in the presence of interferon-γ. Stem Cells. 2006;24(11):2466–77.

30. Rozier P, Maumus M, Maria ATJ, Toupet K, Lai-Kee-Him J, Jorgensen C, et al. Mesenchymal stromal cells-derived extracellular vesicles alleviate systemic sclerosis via miR-29a-3p. J Autoimmun. 2021;121:102660.

31. Maria ATJ, Toupet K, Maumus M, Fonteneau G, Le Quellec A, Jorgensen C, et al. Human adipose mesenchymal stem cells as potent anti-fibrosis therapy for systemic sclerosis. J Autoimmun. 2016;70:31–9.

32. Qu Y, Zhang Q, Cai X, Li F, Ma Z, Xu M, et al. Exosomes derived from miR-181-5p-modified adipose-derived mesenchymal stem cells prevent liver fibrosis via autophagy activation. J Cell Mol Med. 2017;21(10):2491–502.

33. Sun L, Zhu M, Feng W, Lin Y, Yin J, Jin J, et al. Exosomal miRNA Let-7 from menstrual blood-derived endometrial stem cells alleviates pulmonary fibrosis through regulating mitochondrial DNA damage. Oxid Med Cell Longev. 2019;2019.

34. Tan JL, Lau SN, Leaw B, Nguyen HPT, Salamonsen LA, Saad MI, et al. Amnion epithelial cell-derived exosomes restrict lung injury and enhance endogenous lung repair. Stem Cells Transl Med. 2018;7(2):180–96.

35. Zhang Y, Yang Y, Gao X, Gao W, Zhang L. Research progress on mesenchymal stem cells and their exosomes in systemic sclerosis. Frontiers in Pharmacology. 2023;14.

.٣٦Yu Y, Shen L, Xie X, Zhao J, Jiang M. The Therapeutic Effects of Exosomes Derived from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells on Scleroderma. Tissue Eng Regen Med.

2022;19(1):141-50.

۴) هزینه‌ها:

۴-۱) هزینه های پرسنلی:

ردیف	نوع فعالیت	تعدادافراد	ساعات کار هر فعالیت	حق فعالیت در هر ساعت	جمع
جمع هزینه های پرسنلی (ریال)					

۴-۲) هزینه آزمایشات وخدمات تخصصی: (هزینه آزمایش‌ها وخدمات تخصصی که توسط مؤسسات دیگر انجام می‌گیرد.)

ردیف	موضوع آزمایش	مرکزسرویس دهنده	تعدادکل دفعات	هزینه برای هردفعه	جمع
جمع هزینه آزمایشات وخدمات تخصصی (ریال)					

۴-۳) هزینه های وسایل غیر مصرفی: (هزینه‌های دستگاه یا مواد غیر مصرفی که باید از اعتبار این طرح از داخل یا خارج کشور خریداری شود.)

نام دستگاه	نام شرکت	کشور	ایران	تعداد	قیمت واحد	قیمت کل
جمع هزینه های وسایل غیر مصرفی (ریال)						

۴-۴) هزینه های مواد مصرفی: (هزینه های وسایل یا مواد مصرفی که باید ازاعتبار این طرح ازداخل یاخارج کشور خریداری شود.)

نام ماده	نام شرکت	کشور	ایران	تعداد	قیمت واحد	قیمت کل
جمع هزینه های مواد مصرفی (ریال)						

۴-۵) هزینه مسافرت:(درصورت لزوم)

مقصد	تعدادسفر	منظور از مسافرت	وسیله نقلیه	هزینه هربار	کل هزینه
جمع هزینه های مسافرت (ریال)					

۴-۶) هزینه های دیگر:

نوع هزینه	مبلغ هزینه (ریال)
هزینه بیمه شرکت کنندگان در کارآزمایی	
هزینه های تکثیر اوراق و پرسشنامه ها	
هزینه‌های پیش بینی نشده، تورم و ...	
جمع هزینه های دیگر(ردیف ۲۵)	

۴-۷) جمع هزینه ها:

نوع هزینه	هزینه (ریال)
جمع هزینه های پرسنلی (ماده ۱۴)	
جمع هزینه های آزمایشات وخدمات تخصصی (ماده۱۵)	
جمع هزینه های وسایل غیر مصرفی (ماده ۱۷ ب)	
جمع هزینه های مواد مصرفی (ماده ۱۷ ب)	
جمع هزینه های مسافرت	
جمع هزینه های دیگر(ردیف ۲۵)	
جمع کل	

۴-۸) در صورت اخذ اعتبار از سازمان‌های دیگر، مبلغ و نام سازمان را ذکر نمایید:

بله – کل هزینه از ستاد توسعه سلولهای بنیادی معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری تامین خواهد شد.

[M۱۶Comment]: میزان هزینه ها باید نوشته شود و بعد این نکته ذکر گردد.

امضای مجری یا مجریان طرح: **امضای معاون پژوهشی:**

ضمیمه ۱ :فرم اخذ رضایت آگاهانه از بیمار جهت شرکت در پژوهش (چنانچه طرح نیاز به رعایت موازین اخلاقی و حقوقی جهت حفاظت از آزمودنی داشته باشد تکمیل این فرم به زبان ساده و قابل فهم برای آزمودنی یا قیم قانونی او، جهت تصویب در کمیته ی اخلاق الزامی میباشد)

توجه : فرم حاضر در دو برگ طراحی گردیده که هر دو برگ آن باید توسط افراد داوطلب شرکت در طرح پژوهشی یا قیم قانونی آنان (نمونه های پژوهش) و مجری اول طرح پژوهشی امضاء گردد.

شرح و بیان اهداف و شیوه های پژوهش:

نتایج حاصل از این تحقیق می تواند در درمان بیماری اینتراستیشیال ریوی ناشی از بیماری اسکلروز سیستمیک و بهبود علایم ان کمک کننده باشد. و هدف این مطالعه ارائه روش درمانی جدید و موثر تر از درمان های رایج فعلی برای بیماران مبتلا به فیبروز پیشرفته ریه می باشد. ده نفر بیمار مبتلا به اسکلروز سیستمیک وارد مطالعه شده و تزریق وریدی اگزوزوم به فاصله هر دو هفته دریافت میکنند. و سی تی اسکن و تست ورزش بیماران قبل و بعد درمان مقایسه می شود.

مزایا و خطرات احتمالی شرکت در پژوهش:

مزایا و خطرات احتمالی شرکت در پژوهش: خوشبختانه تا کنون در مورد تزریق اگزوزوم عوارض جانبی گزارش نگردیده است

شـــرح مداخلـــه: بیمار محترم علی رغم تلاش‌های بسیاری که برای درمان فیبروز ریوی انجام شده‌است، اما هنوز داروی مخصوص و موثر این بیماری   به صورت عام وجود ندارد. در حال حاضر در روند درمان این بیماری داروهای مختلفی وجود دارد که اثر بخشی صددرصد هیچ کدام به اثبات نرسیده است اما در روند درمان کمک کننده می باشند وبرای بیماران مبتلا به بیماری تجویز می‌گردد. یکی از راههای درمان در این بیماران کاهش التهاب و بازسازی بافت ریه بیمار توسط سلولهای بنیادی و اگزوزومهای حاصل از آن است، مجریان این طرح با مطالعه دقیق متون علمی معتقدند که استفاده از اگزوزوم های مشتق از سلول‌های بنیادی در بهبود هر چه سریعتر بیماران با علائم حاد تنفسی موثر عمل می‌کنند. به طوریکه احتمال دارد که در درمان انجام شده توسط این سلول‌ها در بیماران، طول دوره‌ی بیماری و آسیبی های ریوی تا حدی کاهش داشته است.

اختیارات بیمار:

شرکت بیمار در این طرح، آگاهانه و اختیاری است و در طول اجرای طرح مختار است پس از مذاکره با مجری، از طرح خارج و از همکاری انصراف دهد

تعهدات مجری طرح پژوهشی:

مجریان متعهد می‌گردند ۱-هزینه اضافی ناشی از اجرای این طرح از بیمار دریافت نگردد ۲-هرگاه از نظر بالینی هر گونه مداخله با تزریق اگزوزوم ناشی از اجرای طرح را برای بیمار مضر یافتند، مداخله/درمان را در مورد آن بیمار خاتمه داده و پروتوکل‌های درمانی روتین و استاندارد بیماری را پیگیری و انجام دهند.

شمارهی تلفن محل کار مجری اول طرح پژوهشی: 38238886

مشخصات بیمار:

نام: **نام خانوادگی:**

نام پدر: **تاریخ تولد:**

اینجانب.................................... با آگاهی کامل از مطالب مندرج در این فرم، رضایت خود /فرد تحت قیمومیت خود را جهت شرکت در طرح پژوهشی خانم / آقای..دکتر شیرین عصار....تحت عنوان ".... بررسی اثربخشی اگزوزوم های مشتق شده از سلولهای بنیادی مزانشیمی پلاسنتا بر بهبود علایم فیبروز اینتراستیشیال ریه در بیماران اسکلروز سیستمیک یک کارآزمایی بالینی تک بازویی.."اعلام میدارم.

امضاء **امضاء و اثر انگشت**

مجری اول طرح پژوهشی **بیماریا قیم قانونی او**

راهنمای مجری طرح پژوهشی جهت تکمیل فرم اخذ رضایت آگاهانه از بیمار جهت شرکت در پژوهش

شرح و بیان اهداف و شیوه های پژوهش به زبان ساده:

(شامل شرح پژوهش به زبان ساده و قابل فهم، هدف ازانجام پژوهش،طول مدت مراجعه، زمان مراجعه و محل مراجعه برای بیماریا قیم قانونی او می‌باشد.)

نتایج حاصل از این تحقیق می تواند در درمان بیماری اینتراستیشیال ریوی ناشی از بیماری اسکلروز سیستمیک و بهبود علایم ان کمک کننده باشد. و هدف این مطالعه ارائه روش درمانی جدید و موثر تر از درمان های رایج فعلی برای بیماران مبتلا به فیبروز پیشرفته ریه می باشد. ده نفر بیمار مبتلا به اسکلروز سیستمیک وارد مطالعه شده و تزریق وریدی اگزوزوم به فاصله هر دو هفته دریافت میکنند. و سی تی اسکن و تست ورزش بیماران قبل و بعد درمان مقایسه می شود.

مزایا و خطرات احتمالی شرکت در پژوهش به زبان ساده:

(درمورد فواید و همچنین عوارض جانبی و خطرات احتمالی شرکت در طرح پژوهشی و نحوه حمایت درمانی از بیمار به زبان ساده و قابل فهم برای بیماریا قیم قانونی او توضیح داده شود.)

مزایا و خطرات احتمالی شرکت در پژوهش: خوشبختانه تا کنون در مورد تزریق اگزوزوم عوارض جانبی گزارش نگردیده است

شرح مداخله به زبان ساده :

(میزان و تعداد دفعات خونگیری ،جراحی ، آندو سکوپی و... و احتمال استفاده از نمونه ها درمطالعات بعدی به زبان ساده و قابل فهم برای بیماریا قیم قانونی او توضیح داده شود.همچنین توضیح داده شود که در صورت عدم پذیرش روش انتخابی پژوهشگر، بیمار از چه روش‌های درمانییا تشخیصی دیگر می‌تواند استفاده کند.)

بیمار محترم علی رغم تلاش‌های بسیاری که برای درمان فیبروز ریوی انجام شده‌است، اما هنوز

داروی مخصوص و موثر این بیماری به صورت عام وجود ندارد. در حال حاضر در روند درمان این بیماری داروهای مختلفی وجود دارد که اثر بخشی صددرصد هیچ کدام به اثبات نرسیده است اما در روند درمان کمک کننده می باشند وبرای بیماران مبتلا به بیماری تجویز می‌گردد. یکی از راههای درمان در این بیماران کاهش التهاب و بازسازی بافت ریه ببیمار توسط سلولهای بنیادی و اگزوزومهای حاصل از آن است، مجریان این طرح با مطالعه دقیق متون علمی معتقدند که استفاده از اگزوزوم های مشتق از سلول-های بنیادی در بهبود هر چه سریعتر بیماران با علائم حاد تنفسی موثر عمل می‌کند. به طوریکه احتمال دارد که در درمان انجام شده توسط این سلول‌ها در بیماران، طول دوره‌ی بیماری و آسیبی های ریوی تا حدی کاهش داشته است.

اختیارات بیمار به زبان ساده:

(درموردحق انتخاب بیماریا قیم قانونی او برای شرکت در طرح پژوهشی و یا انصراف از ادامه شرکت در طرح و چگونگی خروج بیمار از شرکت در پژوهش به زبان ساده و قابل فهم برای بیماریا قیم قانونی او توضیح داده شود.)

شرکت بیمار در این طرح، آگاهانه و اختیاری است و در طول اجرای طرح مختار است پس از مذاکره با مجری، از طرح خارج و از همکاری انصراف دهد

تعهدات مجری طرح پژوهشی به زبان ساده:

(در خصوص جبران خطرات احتمالی ، محرمانه ماندن هویت بیمار و اطلاعات مربوط به او و همچنین پرداخت هزینه های درمانی به بیمار و عدم تغییر درنحوه ی رفتار پزشک درمانگر یا نحوه ی درمان و مراقبت از بیمار در صورت انصراف بیمار از شرکت در طرح پژوهشی تعهد داده شود.)

مجریان متعهد می‌گردند ۱-هزینه اضافی ناشی از اجرای این طرح از بیمار دریافت نگردد ۲- هرگاه از نظر بالینی هر گونه مداخله با تزریق اگزوزوم ناشی از اجرای طرح را برای بیمار مضر یافتند، مداخله/درمان را در مورد آن بیمار خاتمه داده و پروتوکل‌های درمانی روتین و استاندارد بیماری را پیگیری و انجام دهند.

ضمیمه ۲- راهنمای رفرنس نویسی (روش ونکوور):

۱- در مورد مقالات خارجی به ترتیب زیر منابع را معرفی می‌کنند:

نام خانوادگی و حرف اول نام نویسنده یا نویسندگان. عنوان مقاله. نـام اختصـاری مجلـه طبـق روش Index Medicos، سال انتشار، شماره جلد، صفحات. مثال:

10- Rezaei M, Kazemnejad A, Mahmmodi M, Meshkani MR. Estimation of finite mixture distributions parameters in survival analysis. Jour of Ins. of Math. & Comp. Sci. (Math. Ser.), Kolkata, India, 2004, No. 1, P: 39-46.

۲- در مورد مقالات فارسی به ترتیب زیر منبع را معرفی می‌کنند:

نام خانوادگی و نام نویسنده یا نویسندگان. عنوان مقاله. نام مجله، سال انتشار، شماره جلد، شماره صفحات. مثال:

۱۳- رضایی منصور، کاظم نژاد انوشیروان، رئیسی داریوش، بردیده عبدالرسول. تحلیل بقای بیماران پیوند کلیه در کرمانشـاه (۸۰-۱۳۶۸). فصلنامه علمی پژوهشی بهبود، سال ۷، شماره (۳)۱۸، پاییز ۱۳۸۲، ص: ۴۱-۲۷.

۳- کتب خارجی را می‌توان به ترتیب زیر به عنوان منبع معرفی کرد:

نام خانوادگی و حرف اول نام نویسنده یا نویسندگان. نام کتاب. شماره چاپ، نام ناشر، شهر محل نشر، سال انتشـار، شـماره جلد، شماره صفحات. مثال:

20- Altman DG. Practical statistics for medical research. 1st ed., Chapman & Hall, London, 1991, p: 63.

۴- در مورد کتب فارسی نیز می‌توان به این ترتیب عمل کرد:

نام خانوادگی و نام نویسنده یا نویسندگان. نام کتاب. شماره چاپ، نام ناشر، شهر محل نشر، سال انتشار، شماره جلد، شماره صفحات. مثال:

۲۳- رضایی منصور، مرادی بهیه. کلیات روش تحقیق در علوم پزشکی. نشر چشمه دانـش و هنـر و دانشـگاه علـوم پزشـکی کرمانشاه، کرمانشاه، ۱۳۸۳، چاپ اول، ص: ۲۱۶-۲۱۴.

۵- در بعضی کتب فصول مختلف توسط نویسندگان مختلف نوشته می‌شود و یک نفر فصول مختلف را گردآوری می‌کند. در این مورد بهتر است منبع را به روش ذیل معرفی کرد:

نام خانوادگی و حرف اول نام نویسنده یا نویسندگان بخش. عنوان بخش. نام مؤلف کتاب. نام کتاب. شماره چاپ، نام ناشـر، شهر محل نشر، سال انتشار، شماره جلد، صفحات. مثال:

40- Simon G Thompson. Meta analysis of clinical trials.in: Armitage P, Colton T. Encyclopedia of Biostatistics. 2nd ed. , John Wiley & Sons, Toronto, 1998, vol. 4, P: 2570-2579.

ضمیمه ۳- برخی نکات از آئین نامه پژوهشی:

خواهشمند است قبل از تکمیل فرم پروپوزال نکات زیر را به دقت مطالعه فرمایید:

۱- در مواردی که اجرای طرح مستلزم همکاری سازمان های دیگری باشد، طرح دهنده بایستی قبلا موافقت همکاری با سازمان های مربوطه را کسب نماید.

۲- کلیه طرح هایی که به تصویب شورای پژوهشی دانشگاه و یا سازمان تامین کننده اعتبار می رسد بر اساس قراردادی که بین معاونت پژوهشی ذیربط و مجری طرح منعقد می شود، قابل اجرا خواهد بود و از تسهیلات علمی، مالی و اداری مرکز طرف قرارداد برخوردار خواهد بود.

۳- مجری طرح طبق قرارداد ملزم به ارائه گزارش پیشرفت کار در فواصل زمانی تعیین شده در قرارداد می باشد (سه ماهه).

۴- چنانچه انجام طرح پژوهشی در مرحله ای از پیشرفت آن اعم از اینکه به نتیجه نهایی رسیده یا نرسیده باشد، منجر به کشف یا اختراع و یا تحصیل حقوقی شود، مجری طرح طرف قرارداد موظف است مراتب را کتبا" به سازمان ذیربط اطلاع دهد. حقوق فوق الذکر که در اثر اجرای طرح تحقیقاتی ایجاد گردیده است طبق قرارداد متعلق به پژوهشگر یا سازمان و یا هر دو خواهد بود.

۵- در صورت تمایل مجری طرح به انتشار یا ارائه نتایج حاصله در داخل یا خارج از کشور، لازم است قبلا" نظر موافق سازمان ذیربط را جلب نماید. بدیهی است که ذکر حمایت مالی و همکاری سازمان ذیربط در انتشارات مذکور الزامی خواهد بود.

۶- چنانچه مجری در هر مرحله از اجرای طرح از ادامه آن منصرف گردد ضمن توضیح علت، بودجه و لوازم باقیمانده را بایستی به سازمان ذیربط مسترد نماید.

۷- رعایت مبانی اصول اخلاق در پژوهش باید توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه تایید شده باشد.

۸-ضروری است تمامی پژوهشگران پس از اخذ کد اخلاق مطالعه نسبت به ثبت پروتکل پیش از شروع مطالعه، در وبسایت WWW.IRCT.IR اقدام کنند.

۹-پژوهشگران ملزم به همکاری با ناظر اخلاقی معرفی شده از طرف معاونت تحقیقات و فناوری در تمامی مراحل انجام مطالعه می باشند.