

Original Article

Health risk assessment of heavy metals (Zn and Cd) via consumption of cinnamon, black Pepper and chili marketed in city of Hamedan

Zahra Azarshah¹, Soheil Sobhanardakani^{1*}

Department of the Environment, School of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran.

*Corresponding author; E-mail: s_sobhan@iauh.ac.ir

Received: 29 November 2016 Accepted: 9 March 2017 First Published online: 13 December 2018

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):7-14

Abstract

Background: Spices with ability to accumulation of heavy metals grown in various regions of the world have been used for several purposes such as flavorings and condiments for culinary and even use as drugs for patient's treatment since ancient times. Therefore, this study was carried out to analysis and assessment of health risk of Zn and Cd in cinnamon, black pepper and chili marketed in city of Hamedan in 2015.

Methods: After preparation of 18 specimens of each spices and acid digestion of the samples according to standard methods, the concentration of Zn and Cd in samples were measured with the flame and graphite furnace techniques, respectively using atomic absorption spectrophotometer (AAS) in 3 replicates. Also, all statistical analyses were performed using the SPSS statistical package.

Results: The results showed that the minimum and maximum mean concentrations of metals in spices samples for Zn (mg/kg) were 0.43 ± 0.10 and 0.60 ± 0.14 , related to cinnamon and chili, respectively and for Cd (mg/kg) were 0.02 ± 0.01 and 0.03 ± 0.01 , related to cinnamon and black pepper, respectively. Also the mean concentrations of metals in spices samples were lower than WHO maximum permissible limits (MPL), and health risk assessment showed that no potential risk for children and adult by consume the studied spices.

Conclusion: The controlled consumption of spices has not adverse effect on the consumers' health, but due to the lack of adequate information about processing conditions, habitat adjacent to industrial areas and polluted with heavy metals, increased use of agricultural inputs, sewage sludge and wastewater by farmers, regular periodic monitoring of chemical pollutants content specially heavy metals in foodstuffs are recommended for food safety.

Keywords: Spices, Zinc, Cadmium, Health Impact Assessment, Food Safety

How to cite this article: Azarshah Z, Sobhanardakani S. [Health risk assessment of heavy metals (Zn and Cd) via consumption of cinnamon, black Pepper and chili marketed in city of Hamedan]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):7-14. Persian.

مقاله پژوهشی

ارزیابی شاخص سلامت عناصر روی و کادمیوم در ادویه‌جات دارچین، فلفل سیاه و فلفل قرمز عرضه شده در همدان

زهرا آذرشب^{ID}، سهیل سبحان اردکانی^{ID*}

گروه محیط زیست، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران
*ایمیل نویسنده رابط: s_sobhan@iauh.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۵/۹/۹ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۹ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ آذر و دی؛ ۴۰(۵): ۷-۱۴

چکیده

زمینه: ادویه‌جات با قابلیت تجمع فلزات سنگین از زمان‌های گذشته به عنوان یکی از متداول‌ترین طعم‌دهنده‌ها و چاشنی‌ها با منشأ طبیعی به مقادیر قابل توجه در تهیه مواد غذایی حتی به عنوان دارو برای درمان بیماران استفاده شده‌اند. این پژوهش با هدف تعیین شاخص سلامت عناصر روی و کادمیوم در دارچین، فلفل سیاه و فلفل قرمز مصرفی در شهر همدان در سال ۱۳۹۴ انجام یافت.

روش کار: بعد از تهیه ۱۸ نمونه از هر یک از ادویه‌جات مورد مطالعه، آماده‌سازی و هضم اسیدی نمونه‌ها در آزمایشگاه، غلظت عناصر روی و کادمیوم توسط دستگاه جذب اتمی به ترتیب به روش شعله‌ای و کوره گرافیتی تعیین شد. پردازش آماری نتایج نیز توسط نرم‌افزار SPSS انجام یافت.

یافته‌ها: کمینه و بیشینه میانگین غلظت عناصر در نمونه‌های ادویه بر حسب میلی گرم در کیلوگرم برای روی با $0/43 \pm 0/1$ و $0/6 \pm 0/14$ به ترتیب مربوط به دارچین و فلفل قرمز و برای کادمیوم با $0/02 \pm 0/01$ و $0/03 \pm 0/01$ به ترتیب مربوط به دارچین و فلفل سیاه و در همه موارد کم‌تر از رهنمود WHO بود. همچنین مقادیر شاخص سلامت (HI) برای همه ادویه‌جات کوچک‌تر از یک بود.

نتیجه‌گیری: با استناد به نتایج این پژوهش مصرف کنترل شده ادویه‌جات مورد مطالعه عواقب مخاطره آمیز بهداشتی برای مصرف کنندگان ندارد، اما به دلیل عدم وجود اطلاعات کافی از شرایط بهینه فرآوری، مجاورت رویشگاه‌ها با مناطق صنعتی و آلوده به فلزات سنگین، توسعه استفاده از کودهای آلی به‌ویژه کمپوست و همچنین لجن فاضلاب حاوی فلزات سنگین به عنوان کود و مصرف بی‌رویه سموم و کودهای شیمیایی، نسبت به پایش مقادیر تجمع یافته فلزات سنگین در مواد غذایی پرمصرف به‌ویژه سایر ادویه‌جات به منظور حفظ ایمنی غذایی توصیه می‌شود.

کلید واژه‌ها: ادویه، روی، کادمیوم، ارزیابی تأثیرات سلامت، ایمنی غذایی

نحوه استناد به این مقاله: آذرشب ز، سبحان اردکانی س. ارزیابی شاخص سلامت عناصر روی و کادمیوم در ادویه‌جات دارچین، فلفل سیاه و فلفل قرمز عرضه شده در همدان. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۷-۱۴

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

گیاهان و ادویه‌جات منبع بسیاری از مواد فعال زیستی هستند که می‌توانند طعم، رنگ و مزه غذا را بهبود بخشیده و بر هضم و فرآیندهای سوخت و ساز بدن تأثیر گذارند (۱). ادویه، دانه خشک، میوه، ریشه، پوست یا سبزی است که به‌طور معمول به‌عنوان چاشنی (طعم دهنده)، تغییر رنگ و حفظ مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد و گاهی اوقات برای از بین بردن دیگر طعم‌ها استفاده می‌شود. از طرفی بسیاری از ادویه‌جات خواص ضد میکروبی، ضد دیابت، ضد التهاب و ضد فشار خون بالا دارند (۲،۳)، ولی برخی از آن‌ها می‌توانند حاوی مواد شیمیایی سمی باشند.

دارچین از ادویه‌های بسیار محبوب است که از گذشته‌های دور در سراسر دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد و امروزه کاربرد فراوانی در صنایع غذایی، دارویی، پزشکی، آرایشی و بهداشتی دارد. در صنعت غذا، پوست این درخت به شکل قطعات لوله‌ای یا پودر و نیز اسانس روغنی آن به‌عنوان یک ترکیب طعم‌دهنده مطلوب استفاده می‌شود (۴).

فلفل سیاه گیاهی است که از دیرباز در طب سنتی به‌عنوان مسکن دردهای مختلف کاربرد داشته است. این گیاه از قدیم به‌عنوان ادویه و دارو کشت می‌شده و نیز به‌صورت یک کالای تجاری مهم مطرح بوده است (۵).

طبیعت فلفل قرمز گرم و خشک است و ممکن است موجب تحریک پوست و مخاط شود. این گیاه منبع بسیار غنی ویتامین C می‌باشد و مقدار ویتامین C آن به مراتب بیش‌تر از مرکبات است. فلفل قرمز برای تسکین موضعی درد و ناراحتی‌هایی از قبیل رماتیسم، آرتروز، دردهای عصبی، خارش، کمردرد، دردهای عضلانی اسکلتی و به‌عنوان محرک اشتها از آن استفاده می‌شود (۶). جذب و تجمع فلزات سنگین در محصولات زراعی تحت تأثیر عواملی از جمله شرایط آب و هوایی، رسوبات جوی، غلظت فلزات سنگین در خاک و آب، کیفیت خاکی که گیاه در آن رشد می‌کند و درجه رسیدگی محصول در زمان برداشت و از طرفی وجود این فلزات در محتویات مواد غذایی به مرحله رشد گیاه، حمل‌ونقل، پردازش و غنی‌سازی مواد غذایی بستگی دارد (۷-۹). حضور فلزات ضروری مثل آهن، مس، نیکل و روی به مقدار لازم در مواد غذایی برای رشد بدن بسیار مفید می‌باشد ولی در سطوح بالا غیرقابل تحمل هستند. فلزاتی مانند کادمیوم در غلظت‌های بسیار کم نیز سمی می‌باشد (۸).

عنصر روی از نظر کمیت دومین عنصر کمیاب موجود در بدن پس از آهن بوده و از طرفی در اعمال متابولیکی و در ساختمان آنزیم‌های مغزی شرکت می‌کند. به‌عبارتی ناکافی بودن و مصرف بیش از اندازه این فلز می‌تواند سلامتی انسان را به خطر اندازد (۱۰). کوتاه قدی، بیماری‌های پوستی، از دست دادن حس چشایی

و تأثیر در التیام زخم‌ها از عوارض کمبود روی و تهوع، استفراغ، زخم معده، التهاب پانکراس، لتارژی، کم خونی، تب، اختلال تنفسی و فیروز ریه از عوارض گزارش شده در مسمومیت با عنصر روی است (۱۱).

کادمیوم یک عنصر غیر ضروری و سمی بوده که در غلظت‌های پایین در طبیعت وجود دارد و نیم‌عمر زیستی آن ۳۰ سال است (۱۲). این عنصر به‌راحتی از طریق تنفس و تغذیه جذب می‌شود و پس از جذب در بدن در فعالیت‌های متابولیکی و آنزیمی شرکت نموده و سبب اختلال در عملکرد آنزیم‌ها می‌شود. صدمات کلیوی، اسیدی‌شدن ادرار، بروز فشار خون، سرطان‌زایی به‌ویژه سرطان پروستات، ناراحتی‌های مزمن تنفسی و کاهش مقاومت سیستم دفاعی بدن در برابر عوامل بیماری‌زا از اثرات سوء کادمیوم بر انسان است (۱۳). برآورد میانگین مصرف روزانه (Estimated Average Daily Intakes) عناصر، به منظور تعیین مخاطره‌های طولانی‌مدت بر مصرف‌کنندگان محاسبه می‌شود. به منظور بررسی اثرات غیرسرطانی آلاینده‌های محیطی، می‌توان شاخص سلامت (Health Index) را از نسبت برآورد میانگین مصرف روزانه هر عنصر به مصرف روزانه قابل قبول (Acceptable Daily Intakes) آن عنصر محاسبه کرد. مقادیر شاخص سلامت کوچک‌تر از یک بیانگر آن است که مصرف کنترل‌شده ماده غذایی اثر سوء بهداشتی برای مصرف‌کننده ندارد و بالعکس (۱۴).

تاکنون چند مطالعه در زمینه بررسی غلظت تجمع‌یافته فلزات سنگین در انواع ادویه‌جات مصرفی انجام یافته است. آذرشب و سبحان اردکانی در پژوهشی که با هدف تعیین مخاطره سلامت آهن و کروم در ادویه‌جات دارچین، فلفل سیاه و فلفل قرمز مصرفی شهر همدان در سال ۱۳۹۴ انجام یافت، نتیجه گرفتند که مقادیر شاخص HI برای همه ادویه‌جات کوچک‌تر از یک و برای مصرف‌کننده فاقد مخاطره است (۵). نتیجه پژوهش سبحان اردکانی که طی آن نسبت به بررسی پتانسیل خطر ناشی از فلزات آهن، روی، کروم و مس در ادویه‌جات پودر کاری، زردچوبه و هل مصرفی شهر همدان اقدام شد، نشان داد که مقادیر شاخص مخاطره سلامت برای همه ادویه‌جات کوچک‌تر از یک و برای مصرف‌کننده فاقد مخاطره است (۱۵). نتایج پژوهشی که به‌منظور بررسی غلظت برخی فلزات سنگین در ادویه‌جات زردچوبه، فلفل و تخم گشنیز فله و بسته‌بندی مصرفی در بنگلادش انجام یافت، نشان داد که میانگین غلظت عناصر آهن و کروم در نمونه‌ها بیش‌تر از رهنمود سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization) است (۱۶). در مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی عنصر سرب در زردچوبه مصرفی در بنگلادش انجام یافت، مشخص شد که میانگین غلظت سرب در نمونه‌ها بیش‌تر از حد

دقیقه، شدت جریان لامپ‌های هالو کاتد (Hollow Cathode Lamps) برابر با ۶ میلی آمپر و پهنای شکاف تابش (Slit Width) برابر با ۰/۷ نانومتر بود. محتوی عنصر کادمیوم در نمونه‌ها نیز توسط دستگاه جذب اتمی و به روش کوره گرافیتی در ۳ تکرار قرائت شد (۲۱). از طرفی محدودیت‌های تشخیص یا LOD (Limits of Detection) هر عنصر از رابطه $3 \times LOD$ انحراف معیار مقادیر اندازه‌گیری شده در محلول شاهد (بلاتک) و محدودیت‌های کمی یا LOQ (Limits of Quantification) برای هر عنصر نیز از رابطه $3 \times LOD$ محاسبه شد (۲۲). برآورد میانگین مصرف روزانه و شاخص سلامت هر عنصر نیز به‌ترتیب توسط روابط ۱ و ۲ محاسبه شد (۱۵):

$$EADI = \frac{C \times F}{W \times D} \quad \text{رابطه ۱}$$

در رابطه ۱:

C بیان‌گر میانگین غلظت تجمع‌یافته هر عنصر در ماده غذایی مورد مطالعه بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم؛
D نشان دهنده تعداد روزهای سال (۳۶۵)؛
F بیان‌گر میانگین مصرف سالانه ماده غذایی توسط هر فرد بر حسب کیلوگرم (۵)؛
W نشان دهنده میانگین وزن بدن (برابر با ۷۰ و ۱۵ کیلوگرم به- ترتیب برای بزرگسالان و کودکان) است (۲۳).

$$HI = \frac{EADI}{ADI} \quad \text{رابطه ۲}$$

در رابطه ۲:

EADI بیان‌گر برآورد میانگین مصرف روزانه هر عنصر بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم در روز؛
ADI نشان دهنده جذب قابل قبول هر عنصر بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم در روز که برای روی و کادمیوم به‌ترتیب برابر با ۰/۳ و ۰/۰۰۱ است (۲۴).

به‌منظور پردازش آماری داده‌ها از ویرایش ۱۹ نرم‌افزار آماری SPSS استفاده شد. به این‌صورت که برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk، برای مقایسه میانگین غلظت عناصر مورد ارزیابی با رهنمود سازمان بهداشت جهانی از آزمون One Sample T Test و به‌منظور مقایسه میانگین غلظت عناصر مورد ارزیابی بین ادویه‌جات و همچنین بررسی همبستگی بین میانگین غلظت تجمع‌یافته عناصر در نمونه‌ها نیز به‌ترتیب از آزمون‌های One-way ANOVA (Duncan Multiple Range Test) و Pearson's Correlation Coefficient استفاده شد.

استاندارد است و می‌تواند به عنوان یک عامل خطر بالقوه برای مصرف‌کنندگان محسوب شود (۱۷). نتایج مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی عنصر سرب در برخی ادویه‌جات مصرفی در سریلانکا انجام یافت، نشان داد که میانگین غلظت سرب در پودر کاری و زردچوبه کم‌تر و در فلفل بیش‌تر از رهنمود FAO/WHO است (۱۸). سولیورسکا و کازمارک در پژوهشی که به‌منظور بررسی عناصر آهن، روی و مس در ادویه‌جات فلفل، جعفری، شوید، آویشن، پونه کوهی، ریحان و رزماری مصرفی در لهستان انجام یافت، عنوان کردند که میانگین غلظت عناصر در ادویه ریحان بیش‌تر از رهنمود WHO می‌باشد و غلظت تجمع‌یافته فلزات در ادویه‌جات به شرایط محیطی رویش‌گاه گونه‌ها و آلودگی‌های محیط‌زیستی آن منطقه بستگی دارد (۱۹).

دارچین، فلفل سیاه و فلفل قرمز به‌عنوان رایج‌ترین ادویه‌های مورد استفاده خانواده‌های ایرانی به‌طور روزانه و به مقادیر قابل توجه در غذاها مورد استفاده قرار می‌گیرند. آلودگی این قبیل محصولات غذایی به انواع آلاینده‌ها به‌ویژه فلزات سنگین به‌واسطه آلودگی محیط‌زیست از مهم‌ترین چالش‌های حوزه سلامت و بهداشت محسوب می‌شود. لذا این پژوهش با هدف مطالعه شاخص سلامت عناصر روی و کادمیوم در دارچین، فلفل سیاه و فلفل قرمز مصرفی در شهر همدان در سال ۱۳۹۴ انجام یافت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، با استناد به فرمول تعیین اندازه نمونه کوکران، از ۳ برند تجاری و همچنین ۳ نمونه فله‌ای ادویه‌جات دارچین، فلفل سیاه و فلفل قرمز مصرفی در شهر همدان هر کدام ۳ نمونه از فروشگاه‌های عرضه مواد غذایی خریداری (تعداد کل نمونه‌ها ۵۴ عدد بود) و به آزمایشگاه منتقل شد. ابتدا نمونه‌ها در دمای اتاق (۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد) تا رسیدن به وزن ثابت در سایه خشک شدند. به منظور انجام فرآیند هضم، یک گرم از هر نمونه ادویه توسط ترازوی دیجیتال Sartorius مدل Bp121s با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین و به آن ۲۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۶۰٪ و اسید پرکلریک ۶۰٪ با نسبت حجمی ۲ به ۱ افزوده شد. نمونه‌ها تا زمان مشاهده دود سفیدرنگ در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد توسط هیتر حرارت داده شدند. نمونه‌های هضم‌شده پس از عبور از کاغذ صافی واتمن ۴۲، در بالن ۵۰ میلی‌لیتری با آب دوبار تقطیر به حجم رسانده شدند (۲۰). در نهایت پس از ساخت محلول مادر (استوک)، استاندارد نمک عنصر روی در غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در لیتر و کالیبره کردن دستگاه جذب اتمی Shimadzu مدل AA-680، غلظت روی در نمونه‌ها به روش شعله‌ای در طول موج ۲۱۳/۹ نانومتر در ۳ تکرار خوانده شد. لازم به ذکر است که برای قرائت غلظت عنصر روی، سرعت جریان استیلن برابر ۱/۸ لیتر در دقیقه، سرعت جریان هوا برابر ۱۵ لیتر در

یافته‌ها

محتوی عناصر روی و کادمیوم در نمونه‌های دارچین، فلفل سیاه و فلفل قرمز و نتایج آزمون Duncan Multiple Range Test به‌منظور مقایسه میانگین غلظت تجمع‌یافته فلزات بین نمونه‌های ادویه و همچنین نتایج محاسبه اثرات مصرف ادویه‌جات بر سلامت بر اساس پتانسیل خطر عناصر روی و کادمیوم به‌ترتیب در جداول ۱ و ۲ ارایه شده است. نتایج نشان داد که درصد بازیابی، محدودیت‌های تشخیص و محدودیت‌های کمی برای عنصر روی به‌ترتیب برابر با $99/8 \pm 3/80$ ، $0/50$ میلی‌گرم در کیلوگرم و $1/50$ میلی‌گرم در کیلوگرم و برای عنصر کادمیوم به‌ترتیب برابر با $98/5 \pm 4/10$ ، $0/02$ میلی‌گرم در کیلوگرم و $0/07$ میلی‌گرم در کیلوگرم بود.

نتایج نشان داد که بیشینه میانگین غلظت عناصر در نمونه‌های ادویه‌جات بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم برای روی و کادمیوم برابر با $0/60 \pm 0/14$ و $0/03 \pm 0/01$ به‌ترتیب مربوط به فلفل قرمز و فلفل سیاه و در مورد هر دو عنصر کم‌تر از رهنمود WHO (به ترتیب برابر با 50 و $0/2$ میلی‌گرم در کیلوگرم برای عناصر روی و کادمیوم) بود.

همچنین با استناد به نتایج مندرج در جدول ۲، مقادیر شاخص سلامت برای همه ادویه‌جات کوچک‌تر از یک و کم‌تر از حد

مخاطره است. نتایج پردازش آماری نتایج بر اساس آزمون‌های مورد استفاده نشان داد با توجه به سطح معنی‌داری (p-value) برابر با $0/805$ و $0/886$ به‌ترتیب برای روی و کادمیوم در دارچین، برابر با $0/995$ و $0/764$ به‌ترتیب برای روی و کادمیوم در فلفل سیاه و برابر با $0/963$ و $0/998$ به‌ترتیب برای روی و کادمیوم در فلفل قرمز، داده‌های مربوط به غلظت عناصر روی و کادمیوم در نمونه‌های ادویه‌جات از توزیع نرمال برخوردار است و لذا می‌توان برای پردازش داده‌ها از آزمون‌های پارامتری استفاده کرد. نتایج گروه‌بندی آماری (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) نشان داد که بین نمونه‌های دارچین با نمونه‌های فلفل سیاه و فلفل قرمز از نظر میانگین غلظت تجمع‌یافته عنصر روی اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($p < 0/05$) در صورتی‌که از این حیث بین ادویه‌جات برای عنصر کادمیوم اختلاف معنی‌دار آماری وجود ندارد ($p > 0/05$) (جدول ۱). از طرفی نتایج بیان‌گر آن بود که بین میانگین غلظت تجمع‌یافته عناصر روی و کادمیوم با ضریب همبستگی (r) برابر با $0/541$ و $p = 0/268$ در نمونه‌های دارچین، با ضریب همبستگی برابر با $0/392$ و $p = 0/442$ در نمونه‌های فلفل سیاه و با ضریب همبستگی برابر با $0/111$ و $p = 0/835$ در نمونه‌های فلفل قرمز، همبستگی معنی‌دار آماری وجود نداشت.

جدول ۱: میانگین غلظت عناصر روی و کادمیوم بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم در نمونه‌های ادویه‌جات

ادویه	عنصر	روی	کادمیوم
دارچین		$0/43 \pm 0/1^a$	$0/02 \pm 0/01^d$
فلفل سیاه		$0/60 \pm 0/13^b$	$0/03 \pm 0/01^a$
فلفل قرمز		$0/60 \pm 0/14^b$	$0/02 \pm 0/01^a$

* اعداد مربوط به میانگین غلظت ۱۸ نمونه می‌باشد.

** حروف a و b در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری ($p < 0/05$) میانگین غلظت عناصر روی و کادمیوم بین نمونه‌های ادویه می‌باشد.

جدول ۲: نتایج محاسبه نسبت خطر مصرف ادویه‌جات بر اساس پتانسیل خطر روی و کادمیوم

عنصر	EADI (کودکان) (mg/kg/day)	EADI (بزرگسالان) (mg/kg/day)	HI (کودکان)	HI (بزرگسالان)
میانگین جذب روزانه و شاخص سلامت عناصر				
دارچین				
روی	$5/89 \times 10^{-5}$	$1/26 \times 10^{-5}$	$1/96 \times 10^{-4}$	$4/21 \times 10^{-5}$
کادمیوم	$2/46 \times 10^{-7}$	$5/28 \times 10^{-7}$	$2/46 \times 10^{-7}$	$5/28 \times 10^{-7}$
فلفل سیاه				
روی	$8/22 \times 10^{-5}$	$1/76 \times 10^{-5}$	$2/74 \times 10^{-4}$	$5/87 \times 10^{-5}$
کادمیوم	$3/42 \times 10^{-7}$	$7/34 \times 10^{-7}$	$3/42 \times 10^{-7}$	$7/34 \times 10^{-7}$
فلفل قرمز				
روی	$8/22 \times 10^{-5}$	$1/76 \times 10^{-5}$	$2/74 \times 10^{-4}$	$5/87 \times 10^{-5}$
کادمیوم	$2/88 \times 10^{-7}$	$6/16 \times 10^{-7}$	$2/88 \times 10^{-7}$	$6/16 \times 10^{-7}$

بحث

نتایج محاسبه شاخص HI نشان داد که نسبت خطر برای همه ادویه‌جات کوچک‌تر از یک بود. بنابراین مصرف کنترل‌شده این ادویه‌جات اثر سوء بهداشتی برای مصرف‌کننده ندارد. نتایج پژوهشی که با هدف تعیین مخاطره سلامت آهن و کروم در ادویه-جات دارچین، فلفل سیاه و فلفل قرمز مصرفی شهر همدان در سال ۱۳۹۴ انجام یافت، نشان داد که مقادیر شاخص HI برای همه ادویه‌جات کوچک‌تر از یک و برای مصرف‌کننده فاقد مخاطره است (۵). از طرفی نتیجه پژوهشی که طی آن نسبت به بررسی پتانسیل خطر ناشی از فلزات آهن، روی، کروم و مس در ادویه-جات پودر کاری، زردچوبه و هل مصرفی شهر همدان اقدام شد، نشان داد که مقادیر شاخص مخاطره سلامت برای همه ادویه‌جات کوچک‌تر از یک و برای مصرف‌کننده فاقد مخاطره است (۱۵).

نتیجه‌گیری

با در نظر گرفتن ورود روز افزون انواع آلاینده‌ها به محیط و به ویژه فلزات سنگین، نسبت به پایش و کنترل منظم غلظت تجمع-یافته آلاینده‌های پایدار از جمله فلزات سنگین در مواد غذایی به-ویژه اقلام پرمصرف مانند ادویه‌جات به‌منظور حفظ ایمنی غذایی توصیه می‌شود. از طرفی هرچند در این مطالعه با توجه به بودجه و زمان محدود اجرای پژوهش نسبت به مطالعه تعداد اندکی از انواع ادویه و صرفاً فلزات روی و کادمیوم اقدام شد، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی نسبت به بررسی سایر فلزات سمی و سنگین و انواع دیگر ادویه اقدام شود.

قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد محیط‌زیست مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان با شماره ۱۷۱۵۰۵۰۸۹۳۲۰۳۷ است. نویسندگان از حوزه معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه به‌دلیل فراهم کردن امکانات اجرای مطالعه تشکر و قدردانی می‌کنند.

ملاحظات اخلاقی

با توجه به این‌که این مطالعه بر روی نمونه‌های غیر جاندار انجام یافته است، لذا ملاحظات اخلاقی در این پژوهش موضوعیت ندارد.

منابع مالی

این پژوهش با هزینه شخصی مولفان انجام یافته است.

گیاهان بخش مهمی از زنجیره غذایی هستند و جذب و تجمع فلزات سنگین توسط آن‌ها علاوه بر این که اثرات زیان‌باری را برای گونه گیاهی به همراه دارد، موجب بروز انواع بیماری‌ها و اثرات سوء بهداشتی برای انسان و دیگر موجودات می‌شود (۱۵). گونه‌های مختلف گیاهان از نظر مقدار جذب عناصر سنگین و توزیع آن‌ها در بافت‌های خود متفاوت عمل می‌کنند. علاوه بر تفاوت‌های ژنتیکی، عوامل محیطی مختلف از جمله برهمکنشی فلزات سنگین با عناصر غذایی ضروری نیز می‌تواند بر میزان جذب این فلزات توسط گیاهان موثر باشد (۳ و ۱۵). در این راستا، محتوی فلزات سنگین ادویه‌جات نیز به محل رویش، آلودگی‌های محیط‌زیستی، بخش گیاه (دانه، میوه، ریشه، پوست) و فرآیند فرآوری بستگی دارد (۱۱). فلزات سنگین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین و شناخته‌شده‌ترین آلاینده‌ها با ویژگی‌هایی همچون پایداری، تجمع‌پذیری و غیرقابل تجزیه زیستی بودن، در غلظت‌های مشخص، سمی و برای موجودات زنده از جمله انسان مضر هستند (۱۵). از این رو این فلزات پس از ورود به بدن موجودات زنده در بافت‌ها ذخیره شده و می‌توانند در طول زنجیر غذایی در مصرف‌کنندگان بالاتر زنجیره به مقادیر بسیار بیش‌تری تجمع یابند. از طرفی فلزات سنگین می‌توانند جایگزین املاح و مواد معدنی مورد نیاز بدن جانداران شده و از این طریق موجب به مخاطره افتادن سلامتی آن‌ها شوند. استفاده از کودهای شیمیایی، کمپوست، لجن فاضلاب و فعالیت‌های شهری و صنعتی از مهم‌ترین منابع غیرطبیعی ورود فلزات سنگین به خاک به شمار می‌روند (۲۶ و ۱۵). نتایج نشان داد که میانگین غلظت عناصر روی و کادمیوم در نمونه-های ادویه‌جات کم‌تر از رهنمود سازمان بهداشت جهانی بود. این موضوع را می‌توان با رشد ادویه‌جات در مناطق غیرآلوده (۲۷)، قلیایی بودن خاک محل کشت و نرخ اندک جابه‌جایی و انتقال کادمیوم از ریشه‌ها به اندام هوایی (۲۱)، قابلیت ریشه در جذب و تجمع عنصر روی (۲۸) و همچنین افزایش مقدار فسفر خاک با تاثیر منفی بر جذب روی توسط گیاه (۱۹ و ۱۵) مرتبط دانست. در این رابطه می‌توان به تطابق نتایج این پژوهش با دستاورد مطالعه Alagusundaram و Kumaravel که با برآورد محتوی تجمع‌یافته برخی فلزات سنگین در پنج نوع ادویه رایج مصرفی در هندوستان نتیجه گرفتند میانگین غلظت روی و کادمیوم بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم به‌ترتیب برابر با ۱/۵۰ و ۰/۰۰۶ و کم‌تر از رهنمود WHO است (۲۵) و مطالعه چیزولا و همکاران که با بررسی محتوی برخی فلزات سنگین در ادویه‌جات مصرفی در کشور اتریش نتیجه گرفتند میانگین غلظت عناصر روی و کادمیوم (با میانگین غلظت کوچک‌تر از ۰/۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در اکثر نمونه‌ها کم‌تر از رهنمود WHO/FAO بود (۲۱) اشاره کرد.

منافع متقابل

مولفان اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از بابت تالیف یا انتشار مقاله ندارند.

مشارکت مؤلفان

س. سبجان اردکانی طراحی پژوهش، اجرا، تالیف و بررسی و تایید نسخه نهایی مقاله را بر عهده داشته است. از طرفی ز. آذرشب

در تهیه، آماده‌سازی و آنالیز نمونه‌ها در آزمایشگاه و پردازش آماری نتایج مشارکت داشته است.

References

- Krejpcio Z, Krol E, Sionkowski S. Evaluation of heavy metals contents in spices and herbs available on the Polish market. *Pol J Environ Stud* 2007; **16**(1): 97-100.
- Thomas F, Daoust S P, Raymond M. Can we understand modern humans without considering pathogens? *Evol Appl* 2012; **5**(4): 368-379. doi: 10.1111/j.1752-4571.2011.00231.x
- Srinivasan K. Plant foods in the management of diabetes mellitus: spices as beneficial antidiabetic food adjuncts. *Int J Food Sci Nutr* 2005; **56**(6): 399-414. doi: 10.1080/09637480500512872
- Anderson R A, Broadhurst C L, Polansky M M, Schmidt W F, Khan A, Flanagan V P, et al. Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. *J Agr Food Chem* 2004; **52**(1): 65-70. doi: 10.1021/jf034916b
- Azarshab Z, Sobhanardakani S. Study of health risk assessment of Fe and Cr content in some spices marketed in Hamadan City in 2015. *Razi J Med Sci* 2016; **23**(9): 28-34. (Persian)
- Ziegenfuss T N, Hofheins J E, Mendel R W, Landis J, Anderson R A. Effects of a water-soluble cinnamon extract on body composition and features of the metabolic syndrome in pre-diabetic men and women. *J Int Soc Sport Nutr* 2006; **3**(2): 45-53. doi: 10.1186/1550-2783-3-2-45
- Tabande L, Taheri M. Evaluation of exposure to heavy metals Cu, Zn, Cd and Pb in vegetables grown in the olericultures of Zanjan Province's fields. *Iran J Health Environ* 2016; **9**(1): 41-56. (Persian)
- Naser H, Sultana S, Haque M M, Akhter S, Begum R. Lead, cadmium and nickel accumulation in some common spices grown in industrial areas of Bangladesh. *Agr* 2014; **12**(1): 122-130. doi: 10.3329/agric.v12i1.19867
- Abou-Arab A, Abou Donia M. Heavy metals in Egyptian spices and medicinal plants and the effect of processing on their levels. *J Agr Food Chem* 2000; **48**(6): 2300-2304. doi: 10.1021/jf990508p
- Plum L M, Rink L, Haase H. The essential toxin: impact of zinc on human health. *Int J Environ Res Public Health* 2010; **7**(4): 1342-1365. doi: 10.3390/ijerph7041342
- Barceloux D G. Zinc. *J Toxicol Clin Toxicol* 1999; **37**(2): 279-292.
- Wagner G J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Adv Agron* 1993; **51**: 173-212.
- Bernard A. Cadmium & its adverse effects on human health. *Indian J Med Res* 2008; **128**(4): 557-564.
- Zhu F, Wang X, Fan W, Qu L, Qiao M, Yao S. Assessment of potential health risk for arsenic and heavy metals in some herbal flowers and their infusions consumed in China. *Environ Monit Assess* 2013; **185**(5): 3909-3916. doi: 10.1007/s10661-012-2839-y
- Sobhanardakani S. Potential health risk assessment of Cr, Cu, Fe and Zn for human population via consumption of commercial spices; a case study of Hamedan City, Iran. *Int Arch Health Sci* 2016; **3**(3): 119-124.
- Das P K, Halder M, Mujib ASM, Islam F, Mahmud ASM, Akhter S, et al. Heavy metal concentration in some common spices available at local market as well as branded spicy in Chittagong Metropolitan City, Bangladesh. *Curr World Environ* 2015; **10**(1): 101-108. doi: 10.12944/CWE.10.1.12
- Gleason K, Shine L P, Shobnam N, Rokoff L B, Suchanda H S, Sharif Ibne, Hasan MO, et al. Contaminated turmeric is a potential source of lead exposure for children in rural Bangladesh. *J Environ Public Health* 2014; **2014**: 1-5. doi: 10.1155/2014/730636
- Senanayake M P, Perera R, Liyanaarachchi L A, Dassanayake M P. Spices as a source of lead exposure: a market-basket survey in Sri Lanka. *Ceylon Med J* 2013; **58**(4): 168-169. doi: 10.4038/cmj.v58i4.6308
- Suliburska J, Kaczmarek K. Evaluation of iron, zinc and copper contents in selected spices available on the Polish market. *Ann Natl Inst Hyg* 2011; **62**(3): 271-274.
- Mubeen H, Naeem I, Taskeen A, Saddiqe Z. Investigations of heavy metals in commercial spices brands. *New York Sci J* 2009; **2**(5): 20-26. doi: 10.1016/B978-0-08-018068-7.50036-8
- Chizzola R, Michitsch H, Franz C. Monitoring of metallic micronutrients and heavy metals in herbs, spices and medicinal plants from Austria. *Eur Food*

- Res Technol* 2003; **216**(5): 407-411. doi: 10.1007/s00217-003-0675-6
22. Akbari B, Gharanfoli F, Hassanzadeh Khayyat M, Khashyarmansh Z, Rezaee R, Karimi Gh. Determination of heavy metals in different honey brands from Iranian markets. *Food Addit Contam B* 2012; **5**: 105-111. doi: 10.1080/19393210.2012.664173
23. Tang W, Cheng J, Zhao W, Wang W. Mercury levels and estimated total daily intakes for children and adults from an electronic waste recycling area in Taizhou, China: Key role of rice and fish consumption. *J Environ Sci* 2015; **34**: 107-115. doi: 10.1016/j.jes.2015.01.029
24. Türkmen M, Türkmen A, Tepe Y, Töre Y, Ateş A. Determination of metals in fish species from Aegean and Mediterranean seas. *Food Chem* 2009; **113**(1): 233-237. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.06.071
25. Kumaravel S, Alagusundaram K. Determination of Mineral Content in Indian Spices by ICP-OES. *Orient J Chem* 2014; **30**(2): 631-636. doi: 10.13005/ojc/300231
26. Jalali M, Arfania H. Leaching of heavy metals and nutrients from calcareous sandy-loam soil receiving municipal solid sewage sludge. *J Plant Nutr Soil Sci* 2010; **173**(3):407-416. doi: 10.1002/jpln.200800225
27. Alam M, Snow E, Tanaka A. Arsenic and heavy metal contamination of vegetables grown in Samta village, Bangladesh. *Sci Total Environ* 2003; **308**(1): 83-96. doi: 10.1016/S0048-9697(02)00651-4
28. Claus J, Bohmann A, Chavarria-Krauser A. Zinc uptake and radial transport in roots of *Arabidopsis thaliana*: a modelling approach to understand accumulation. *Ann Bot* 2012; **112**(2): 369-380. doi: 10.1093/aob/mcs263

Original Article

The effect of endurance training under microgravity condition on serum level of Brain-derived neurotrophic factor in male rats

Mohammad Asadi Golzar^{1*} , Ali Kazemi¹ , Neda khaledi¹ , Zahra Hajebrahimi², Vahid Nikbakht¹, Morteza Yari³

¹Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Science, Kharazmi University, Tehran, Iran.

²Aerospace Research Institute, Ministry of Science Research and Technology, Tehran, Iran.

³Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Science, University of Tehran, Tehran, Iran.

*Corresponding author; E-mail: agmohammad111@gmail.com

Received: 21 April 2017 Accepted: 12 August 2017 First Published online: 13 December 2018

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):15-22

Abstract

Background: Exposure to microgravity condition such as space, bed rest and other microgravity environments lead to several neuromuscular problems. The purpose of this study is to investigate the effect of four weeks endurance training under microgravity condition on serum level of Brain-derived neurotrophic factor in male rats.

Methods: In this regard, 36 six-week-old male Wistar rats (weight range 175 ± 15 gr) were randomly selected and divided into four groups including suspension group (n=10), endurance training group (n= 6), endurance training + suspension (n=10), control (n=10) and were examined for four weeks. To simulate microgravity condition on Earth, hind-limb suspension model was used for four weeks. After collecting blood samples from left ventricles of rats and separating serum BDNF levels were measured by ELISA kit.

Results: our results showed that serum levels of BDNF in endurance training with suspension group compare to other groups significantly increased ($P<0.05$).

Conclusion: Based on the present results, it seems that endurance training under microgravity condition could reduce the neuromuscular problems induced by microgravity. Also this type of training like exercises with anti-gravity treadmills can be used for other physiological condition similar to astronauts, such as the elderly and patient on bed rest and people with spinal cord injury.

Keywords: Microgravity, BDNF, Endurance Training, Hind-Limb Suspension, Rat

How to cite this article: Asadi Golzar M, Kazemi A, khaledi N, Hajebrahimi Z, Nikbakht V, Yari M. [The effect of endurance training under microgravity condition on serum level of Brain-derived neurotrophic factor in male rats]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):15-22. Persian.

مقاله پژوهشی

تاثیر یک دوره تمرین استقامتی تحت شرایط بی‌وزنی بر سطح سرمی عامل رشد عصبی مشتق شده از مغز (BDNF) موش‌های صحرایی نر

محمد اسدی گلزار^{۱*}، علی کاظمی^۱، ندا خالدی^۱، زهرا حاج‌ابراهیمی^۲، وحید نیکبخت^۱، مرتضی یاری^۳

^۱گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
^۲پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران
^۳گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
*نویسنده رابط، ایمیل: agmohammad111@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۶/۲/۱ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۲۱ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز، آذر و دی ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۲۲-۱۵

چکیده

زمینه: قرارگیری در شرایط کم جاذبه همچون فضا، استراحت مطلق در بستر و دیگر محیط‌هایی که در آن فرد دچار کم وزنی می‌شود، باعث بروز مشکلات عصبی-عضلانی متعددی می‌گردد. هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی تحت شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده بر سطح سرمی عامل رشد عصبی مشتق شده از مغز (BDNF) موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

روش کار: به منظور آزمایش تعداد ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن 15 ± 175 در چهار گروه تعلیق ($n=10$)، تمرین استقامتی ($n=6$)، تعلیق+تمرین استقامتی در حالت تعلیق ($n=10$)، و کنترل ($n=10$) قرار گرفته و به مدت شش هفته مورد آزمایش قرار گرفتند. برای ایجاد شرایط بی‌وزنی از روش تعلیق اندام عقبی (HLS) استفاده شد. ۲۴ ساعت پس از انجام پروتکل، خون‌گیری از قلب موش‌ها که به وسیله مخلوط کانامین و زایلوزین بی‌هوش شده بودند، انجام شد و سپس نمونه‌ها به روش الایزا مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطح سرمی BDNF پس از شش هفته در گروه تعلیق+تمرین استقامتی در حالت تعلیق نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری داشت (معنی‌داری در سطح ۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: براساس نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد که تمرینات استقامتی در شرایط بی‌وزنی سبب افزایش سطح سرمی BDNF گشته و به تعدیل اختلالات عصبی کمک می‌کنند. همچنین می‌توان از مزایای تمرینات استقامتی در شرایط بی‌وزنی مانند تمرین با تردمیل‌های ضد جاذبه در جامعه‌های آماری دیگری که شرایط فیزیولوژیکی مشابه با فضانوردان دارند، نظیر سالمندان، بیماران که تحت استراحت مطلق به سر می‌برند و افرادی که دچار آسیب‌های نخاعی و حرکتی می‌باشند، بهره برد.

کلید واژه‌ها: بی‌وزنی، BDNF، تمرین استقامتی، تعلیق اندام عقبی، موش صحرایی

نحوه استناد به این مقاله: اسدی گلزار م، کاظمی ع، خالدی ن، حاج‌ابراهیمی ز، نیکبخت و، یاری م. تاثیر یک دوره تمرین استقامتی تحت شرایط بی‌وزنی بر سطح سرمی عامل رشد عصبی مشتق شده از مغز (BDNF) موش‌های صحرایی نر. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۲۲-۱۵

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

فضانوردان هنگام پرواز فضایی و آزمودنی‌هایی که در بستر استراحت می‌کنند، در معرض تغییرات فیزیولوژیک قابل توجه‌ای قرار دارند. قرارگیری در این شرایط سبب کاهش توده و قدرت عضلات می‌گردد. میزان کاهش قدرت و توان عضلات به مراتب بیشتر از کاهش توده عضلانی است که نشان دهنده اختلال در عملکرد عصبی-عضلانی می‌باشد (۱). کاهش سریع و اولیه قدرت به احتمال زیاد به دلیل تغییرات در عملکرد عصبی-حرکتی و در ادامه به دلیل آتروفی عضلانی و تغییرات بیوشیمیایی مربوط است (۲). تغییرات ریخت‌شناسی و اتکای بیشتر بر سوخت و ساز گلیکولیزی تارها، سرعت انقباض و اتکای بیشتر بر سوخت و ساز گلیکولیزی سبب بروز این اختلالات می‌گردد (۳). آتروفی عضلانی تنها پس از مدت کوتاهی ماندن در فضا قابل توجه است. بدون اقدامات اصلاحی (متقابل)، فضانوردان ۲۰٪ از توده عضلانی خود را طی یک مأموریت کوتاه مدت و تا ۵۰٪ را طی یک مأموریت طولانی مدت از دست خواهند داد. از دست دادن قدرت و استقامت منجر به کاهش قابل توجهی در عملکرد فضانوردان پس از بازگشت به یک محیط دارای جاذبه می‌گردد (۴). میزان سستز پروتئین تقریباً به مقدار ۳۵٪ در چند ساعت اول و تا ۵۰٪ در چند روز اول بی‌حرکتی کاهش می‌یابد، که منجر به کاهش پروتئین عضله می‌گردد (۵). کاهش در قدرت پس از پرواز فضایی مشاهده شده است که اغلب بسیار بیشتر از کاهش مربوط به توده عضلانی است. در مطالعه‌ای که بر روی ۱۴ فضانورد انجام شد مشاهده گردید که پس از ۹۰ روز از ۱۸۰ روز پرواز فضایی نیروی ایزومتریک بیشینه پاها ۱۷٪ کاهش یافته بود، درحالی‌که توده عضلانی مربوطه فقط ۱۱٪ کاهش داشت. نویسندگان چنین استنباط کردند که نتایج به دلیل اختلال در عملکرد عصبی-تکاملی ناشی از ویژگی‌های ذاتی واحد حرکتی یا تغییر در فراخوانی واحد حرکتی یا هر دو می‌باشد (۶).

یکی از یافته‌های عملی و کلیدی کاوش فضایی انسان آن است که به نظر می‌رسد کم وزنی درست مثل پیری باعث فرسایش بسیاری از دستگاه‌های بدن می‌شود (۷). از جمله مهم‌ترین سیستم‌های فیزیولوژیک که تحت تأثیر شرایط بی‌وزنی قرار می‌گیرد، سیستم عصبی می‌باشد. مرگ سلول عصبی در سراسر سیستم عصبی مرکزی و محیطی، یکی از مشخصه‌های پیر شدن است و تعجبی ندارد که نوروں حرکتی نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد. کاهش نوروں‌های حرکتی به معنای کاهش واحدهای حرکتی می‌باشد (۸). در مطالعه‌ای که پاسخ سلول‌های جانبی به تحریک کم جاذبه‌ای به واسطه معلق سازی پاهای عقبی را مورد بررسی قرار داده بودند، هنگامی که موش در موقعیت افقی به حالت تعلیق قرار گرفت، افزایش سریع در تارهای عصبی نوع I (۷/۲۱٪)، کاهش سریع در تارهای عصبی نوع II (۳/۲۱٪) و

کاهش تدریجی در تارهای عصبی نوع III (۱۱/۲۱٪) گزارش شد. همچنین زمانی که موش با یک موقعیت شیب سر به پایین قرار گرفت، حدوداً پاسخ نیمی از سلول‌های عصبی سرکوب شد (۹). سیستم عصبی ما را از محیط اطرافمان آگاه ساخته و اجازه می‌دهد تا در برابر شرایط خارجی واکنش‌های مناسبی نشان دهیم. نوروپلاستیستی، به معنی توانایی مغز در تشخیص وضعیت خودش در محیط‌های جدید با کمک برقراری ارتباط‌های جدید عصبی است. سلول‌های عصبی (نوروں‌ها) پس از تولد تکثیر پیدا نمی‌کنند. ولی با توجه به مفهوم نوروپلاستیستی، بافت مغز قادر است مسیرهای جدیدی را ایجاد کرده (نوروژنز) و در مواجهه با شرایط جدید راه تکاملی خود را پیدا کند (۱۰). توانایی رشد سلول‌های جدید از سلول‌های بنیادی عصبی را نوروژنز می‌نامند. نوروتروفین‌ها مواد شیمیایی هستند که به تحریک و کنترل نوروژنز کمک می‌کنند. در این بین، عامل رشد عصبی مشتق شده از مغز (BDNF) یکی از مهمترین نوروتروفین‌ها به حساب می‌آید و بیشترین نوروتروفینی می‌باشد که در پژوهش‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۱). این عامل در تفکیک نوروںی، شکل‌پذیری سیناپسی، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، جذب غذا و متابولیسم، حافظه، یادگیری و اختلال رفتاری نقش دارد (۱۲). بر اساس یافته‌های پژوهش‌های پرواز فضایی و استراحت در بستر، ساختار و عملکرد عصبی-عضلانی هنگام کم‌جاذبگی را می‌توان با طراحی برنامه‌های فعالیت ورزشی مناسب حفظ و بازایی کرد. هنگام قرارگیری در این وضعیت بیشتر از فعالیت‌های ورزشی پویای زیربیشینه استفاده می‌شود (۱۳). در این بین یکی از موثرترین تمرینات ورزشی، تمرینات استقامتی می‌باشد که عبارت است از توانایی اجرای حرکات به طور مداوم و در یک مدت زمان طولانی (۱۴). یکی از واکنش‌های رایج به تمرینات استقامتی گسترده‌گی اتصالات عصبی-عضلانی و افزایش پیچیدگی شاخه‌های پایانه‌ی آکسونی است. در همین راستا قراخانلو و همکاران (۱۹۹۹) بیان کردند که محتوای نوروں‌های حرکتی موش‌هایی که تمرینات استقامتی انجام داده‌اند افزایش داشته است (۱۵).

در سال‌های اخیر تأثیر فعالیت ورزشی و اثرات سودمند آن بر روی عملکرد فیزیکی و شناختی با واسطه‌گری BDNF مورد توجه قرار گرفته است. نشان داده شده است که مقدار BDNF و گیرنده آن (TRKB)، زمانی که موش‌ها از دویدن عادی محروم شوند در هیپوکمپ کاهش می‌یابد (۶). همچنین نشان داده شده است که تمرین استقامتی با افزایش سطوح پلاسمایی BDNF همراه است، و نیز سطوح BDNF در نخاع و همچنین زمانی که به موش‌ها اجازه داده می‌شود تا به صورت اختیاری بر روی چرخ کارسنج بدوند، افزایش می‌یابد (۶). با توجه به شواهد موجود در کاهش فعالیت‌های عصبی در زمان قرارگیری در شرایط بی‌وزنی، به نظر

می‌رسد مقدار BDNF در هنگام قرارگیری در فضا، در بدن کاهش یابد. اگرچه Naumenko و همکاران در تحقیق خود نشان دادند که پرواز فضایی طولانی مدت بیان ژن BDNF را تغییر نمی‌دهد (۱۶). با توجه به اینکه اکثر تحقیقات مربوط به شبیه‌سازی شرایط بی‌وزنی که در ارتباط با سنجش تغییرات عصبی بوده‌اند، بدون اعمال فعالیت ورزشی صورت گرفته و در تحقیق Naumenko و همکاران نیز تاثیر این شرایط به تنهایی بر بیان ژن BDNF اندازه‌گیری شده است و نیز اینکه فعالیت ورزشی به عنوان یک اقدام متقابل برای جلوگیری از کاهش عملکردهای فیزیولوژیک فضانوردان توصیه شده است و از طرفی اکثر تحقیقات نقش موثر ورزش در تقویت نوروزن و ترشح BDNF را به اثبات رسانده‌اند، به نظر می‌رسد که با انجام تمرینات ورزشی در شرایط بی‌وزنی، می‌توان میزان BDNF را تعدیل نموده و عواقب نامطلوب عصبی ناشی از قرارگیری در این شرایط را، در فضانوردان و افرادی با شرایط فیزیولوژیکی مشابه همچون سالمندان و بیماران که دچار آسیب‌های نخاعی بوده و قادر به انجام تمرین با تحمل تمام وزن خود نمی‌باشند، کاهش داده و شرایط را برای آنها مساعدتر نمود.

در همین راستا سازمان فضایی ناسا مدلی از ترمیم‌های ورزشی را ارائه نموده است که به ترمیم ضدجاذبه شهرت دارد. تمرین به‌وسیله این ترمیم به افراد اجازه می‌دهد که وزن خود را بر اساس توانایی‌های حرکتی خود تنظیم کرده و شروع به انجام فعالیت ورزشی کنند. بنابراین با توجه به مطالب ذکر شده به نظر می‌رسد تمرین در شرایط بی‌وزنی و کم‌وزنی در آینده‌ای نزدیک به یکی از روش‌های تمرینی متداول در بهبود سالمندان، افرادی با آسیب نخاعی و افرادی که برای مدت طولانی در حالت استراحت مطلق به سر برده‌اند و پس از آن برای انجام حرکت قادر به تحمل تمام وزن بدن خود نیستند تبدیل گردد.

روش کار

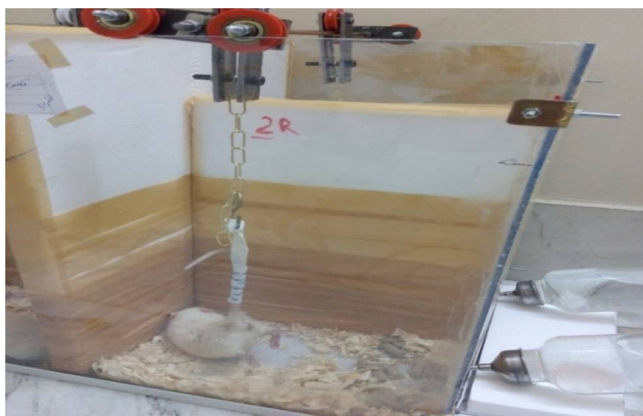
پژوهش حاضر از نوع پژوهش‌های توسعه‌ای می‌باشد که به‌صورت تجربی و با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل انجام شد. تعداد ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن $15 \pm$ گرم، از موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تهیه شده و در آزمایشگاه حیوانات دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه خوارزمی نگهداری شدند. دمای محیط ۲۴ درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت ۵۵ تا ۶۰ درصد کنترل شد. برای تهیه از سیستم تهویه مطبوع و تهویه هوا استفاده گردید و برای تنظیم چرخه روشنایی - تاریکی نیز از تایمر خودکار (سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) استفاده شد. دسترسی موش‌ها به آب و غذا آزادانه بود. موش‌ها پس از ۱ هفته آشنا سازی با محیط آزمایشگاه و شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده (مدل تعلیق اندام عقبی)، به‌طور تصادفی در چهار گروه تعلیق ($n=10$)، تمرین

استقامتی ($n=6$)، تعلیق + تمرین استقامتی ($n=10$) و کنترل ($n=10$) تقسیم شدند. موش‌ها به مدت شش هفته در شرایط بی‌وزنی قرار داشتند. برای ایجاد شرایط بی‌وزنی از روش تعلیق اندام عقبی (HLS) استفاده شد. ۲۴ ساعت پس از انجام پروتکل خون‌گیری از بطن چپ قلب موش‌ها که به وسیله ۰/۱ میلی‌گرم از مخلوط کتامین و زایلوزین (۱۰ میلی‌گرم کتامین و ۱/۵ میلی‌گرم زایلوزین) به ازای هر ۱۰۰ گرم از وزن بدنشان بی‌هوش شده بودند انجام شد. پس از سانتریفیوژ کردن خون، سرم در میکروتیوب‌های مخصوص و در فریزر -۸۰ درجه نگهداری شد و سپس با استفاده از روش الایزا و کیت BDNF ساخت کشور آمریکا (Rat Kit, BDNF, ELISA, HANGZHOU, EASTBIOPHARM, USA) نمونه‌های سرمی گرفته شده در آزمایشگاه هماتولوژی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مدل تعلیق اندام عقبی از طریق عدم اعمال بار در اندام‌های عقبی و شیفت مایعات به سمت سر و اندام‌های جلویی موش که در شرایط کم‌جاذبه و مسافرت فضایی نیز دیده می‌شود، بی‌وزنی را شبیه‌سازی می‌کند. این روش، روش مناسبی برای تقلید تغییراتی است که بر اثر کم‌جاذبه‌ای و بی‌وزنی در سیستم‌های مختلف بدن به‌ویژه سیستم قلبی - عروقی و عصبی - عضلانی انسان و موش ایجاد می‌شود (۱۷). قفس تعلیق با همکاری گروه فیزیولوژی پژوهشگاه هوا فضا ساخته شد. برای بی‌وزن کردن موش‌ها، حیوان را درون رستینر قرار دادیم، دم حیوان را بوسیله پنبه و الکل تمیز کرده و پس از خشک شدن دم، نوار کنزیوتایپ را که به اندازه دو سوم دم موش بریده شده بود را به صورت طولی از ابتدای دم موش تا یک‌سوم انتهایی آن و در ادامه سه چسب دیگر به طول سه تا چهار سانتیمتر را به‌صورت عرضی بر روی دم موش چسبانیدیم. چسب‌ها نه خیلی شل بسته شدند که باز بشوند و نه خیلی سفت بسته شدند که جریان خون طبیعی را دچار اختلال کنند. در ادامه چسبی را که به صورت طولی به دم موش وصل شده بود به قلاب مخصوص قفس تعلیق متصل کردیم و قلاب را به زنجیر میله متحرک قفس نصب کردیم. پس از آن صفحه محدودکننده رستینر را از محلش خارج کرده و اجازه دادیم تا حیوان از رستینر خارج شده و در قفس جا بگیرد. سپس با تنظیم میله متحرک و صفحات دیواره‌های جانبی قفس، موقعیت حیوان را به‌گونه‌ای تنظیم کردیم تا بین قفسه سینه حیوان و کف قفس زاویه ۳۰ درجه ساخته شود. در این حالت اندام عقبی موش در تماس با کف قفس نخواهند بود. میله متحرک، قرقره و قلاب به حیوان اجازه می‌داد که آزادانه حول محور ۳۶۰ درجه در قفس جابه‌جا شده و به تمامی قسمت‌های قفس دسترسی داشته باشد. در این حالت حیوان دسترسی کامل به ظرف غذا و آب داشته و محدودیت حرکتی ندارد. برای ایجاد سیستم بی‌وزنی، میله متحرک در بالای قفس و بر روی دیواره‌های طولی قفس قرار می‌گیرد. در

یافته‌ها

طبیعی بودن توزیع داده‌ها و همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک و لوین تایید شد (جدول ۱). نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه اختلاف معنی‌داری را بین چهار گروه تمرینی نشان داد (سطح معنی‌داری برابر ۰/۰۰۱). همچنین در مقایسه بین گروهی توسط آزمون تعقیبی بونفرونی اختلاف معنی‌دار در بین گروه‌های کنترل و تعلیق + تمرین استقامتی سطح معنی‌داری برابر ۰/۰۰۱، گروه‌های تعلیق و تعلیق + تمرین استقامتی (سطح معنی‌داری برابر ۰/۰۰۱) و گروه‌های تمرین استقامتی و تعلیق + تمرین استقامتی (سطح معنی‌داری برابر ۰/۰۰۴) مشاهده گردید.

این سیستم، از قرقره و مفصل استفاده می‌گردد تا به هنگام انتقال حیوان، حداقل اصطکاک ایجاد شده و حیوان بتواند به راحتی و بدون استفاده از پنجه‌هایش جابه‌جا شود. زاویه و ارتفاع موش‌ها و همچنین دم موش‌ها روزانه چک می‌شدند تا در صورت نیاز اعمال تصحیحی صورت گیرد. پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس قوانین بین‌المللی کشور استرالیا (۱۸) انجام شد. نحوه تعلیق اندام عقبی موش‌های صحرایی در شکل ۱ نشان داده شده است. داده‌های این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۲۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به ترتیب به وسیله آزمون شاپیرو-ویلک و آزمون لوین تایید شد. سپس برای مقایسه تغییرات بین گروهی از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه همراه با آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده گردید.



شکل ۱: مدل تعلیق اندام عقبی در موش صحرایی

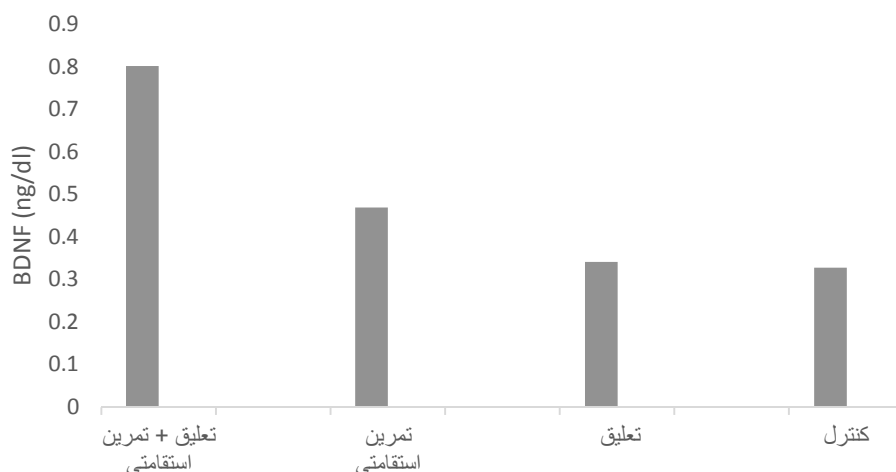
جدول ۱: نتایج آزمون شاپیرو-ویلک و لوین

گروه	آمار استنباطی	میانگین $\pm$ انحراف استاندارد	آزمون شاپیرو-ویلک	آزمون لوین
			معنی‌داری	آماره
تعلیق و تمرین تعلیقی		0.1487 ± 0.08016	۰/۹۱۸	۶/۵۴۵
تمرین استقامتی		0.1394 ± 0.04696	۰/۹۸۱	
گروه تعلیق		0.0767 ± 0.03411	۰/۹۱۸	
گروه کنترل		0.1081 ± 0.03281	۰/۹۱۸	

جدول ۲: مقایسه بین گروهی BDNF توسط آزمون تعقیبی بونفرونی و تحلیل واریانس یک راهه

مقایسه بین گروهی	آماره‌های استنباطی	تفاوت میانگین‌ها	خطای استاندارد	P توکی	P تحلیل واریانس
گروه کنترل	تعلیق + تمرین استقامتی	-۱/۵۵۹۷۱۹	۰/۲۴۵۱۷۱	*۰/۰۰۱	
	تعلیق	-۰/۰۷۸۲۹۲	۰/۲۴۵۱۷۱	۰/۹۹۸	
	تمرین استقامتی	-۰/۳۹۴۸۷۲	۰/۳۰۰۲۷۲	۰/۶۸۴	*۰/۰۰۱
گروه تعلیق + تمرین	تعلیق	۱/۴۸۱۴۲۷	۰/۲۴۵۱۷۱	*۰/۰۰۱	
استقامتی	تمرین استقامتی	۱/۱۶۴۸۴۷	۰/۳۰۰۲۷۲	*۰/۰۰۴	
گروه تعلیق	تمرین استقامتی	-۰/۳۱۶۵۸۰	۰/۳۰۰۲۷۲	۰/۸۲۸	

*سطح معنی‌داری برابر ۰/۰۵



نمودار ۱: مقایسه اختلاف میانگین میزان BDNF در گروه‌های تحقیق

بحث

روشن شدن پاسخ دستگاه عصبی به واسطه تمرین استقامتی در شرایط بی‌وزنی می‌تواند به درک بهتر مشکلات عصبی عضلانی که فضانوردان با آن روبرو هستند، کمک شایانی نماید و می‌توان از یافته‌های آن برای بهبود شرایط بیمارانی که در استراحت مطلق به سر می‌برند و همچنین سالمندان استفاده نمود. بنابراین در تحقیق حاضر به عنوان اولین تلاش محققین به بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی تحت شرایط بی‌وزنی بر سطح سرمی BDNF موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار پرداختند تا با استفاده از یک روش شبیه‌سازی شده تأثیر شرایط بی‌وزنی بر BDNF سرمی موش‌ها، که بازتابی از مقادیر آن در هیپوکمپ و دستگاه عصبی می‌باشد، مورد بررسی قرار داده شود. نتایج بین گروهی تحقیق حاضر نشان داد که تعلیق + تمرین استقامتی به مدت شش هفته میزان BDNF سرمی موش‌های صحرایی را در مقایسه با دو گروه تجربی دیگر (تعلیق و تمرین استقامتی) و نیز گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش داد. در صورتی که بین گروه‌های تمرین استقامتی، تعلیق و کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. یافته‌های این پژوهش در گروه تعلیق بدون مداخله ورزشی با تحقیق Naumenko و همکاران همسو می‌باشد؛ آنها در تحقیق خود نشان دادند که پرواز فضایی طولانی مدت بیان ژن BDNF را تغییر نمی‌دهد، و یک ماه پرواز فضایی، بی‌وزنی و استرس محیطی ناشی از آن تأثیری بر بیان ژن BDNF و کنترل ژنتیکی نورون‌ها به واسطه آن ندارد (۱۶). به نظر می‌رسد که این عدم تغییر در بیان ژن BDNF ناشی از پرواز فضایی یا قرارگیری در شرایط شبیه سازی شده مانند بی‌وزنی، به دلیل افزایش در مقدار پروتئین پروآپتوتیک BAX می‌باشد. گزارش شده که افزایش پروتئین BAX در سلول‌های عصبی منجر به افزایش مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌گردد. از طرفی در تحقیق Naumenko و همکاران افزایش

بیان پروتئین BAX با عدم افزایش بیان BDNF همراه بود (۱۶). افزایش عامل آپوپتوتیک ناشی از قرارگیری در شرایط بی‌وزنی، می‌تواند به عنوان عاملی بالقوه در کاهش ظرفیت عملکردی و ساختاری سلول‌های عصبی و در نهایت تعدیل بیان ژن BDNF به عنوان عاملی موثر در بازسازی و محافظت نورون‌های دستگاه عصبی در نظر گرفته شود. نوع فعالیت ورزشی و شدت آن به عنوان عاملی موثر در تغییر و تعدیل سطوح BDNF در نظر گرفته شده است (۲۰). مطالعات متعدد در زمینه تمرینات ورزشی و BDNF نتایج متناقضی را گزارش کرده‌اند. Ferreira و همکاران در پژوهشی به بررسی تأثیر فعالیت ورزشی بر شاخص‌های معمول شکل‌پذیری ساختاری و سیناپسی هیپوکمپ از جمله BDNF پرداختند. رت‌ها در این مطالعه ۴۰ دقیقه در روز و با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه (۰/۶ کیلومتر در ساعت) در میان سیکل فعال (بین ۱۱ صبح و ۱ بعد از ظهر) روی نوارگردان به فعالیت پرداختند که نتایج این مطالعه تغییری را در پروتئین BDNF و سطوح mRNA بعد از پروتکل تمرینی نشان نداد (۱۹). در مطالعه دیگری Schiffer و همکاران اثر تمرین استقامتی با شدت متوسط بر BDNF در آزمودنی‌های انسان را بررسی کردند و. پس از ۱۲ هفته تمرین تغییری در غلظت پایه BDNF مشاهده نکردند (۲۰). دو مطالعه فوق با نتایج پژوهش حاضر در گروه تمرین استقامتی همسو می‌باشند. همچنین در پژوهش Adlard و همکاران بیان ژن BDNF ناشی از فعالیت ورزشی در درون هیپوکمپ موش‌ها پس از تمرین استقامتی افزایش معنی‌داری را نشان داد (۲۱) با نتایج پژوهش حاضر در گروه تمرین استقامتی ناهمسو می‌باشد. از دلایل احتمالی ناهمسوئی می‌توان به نحوه سنجش BDNF اشاره کرد. چراکه پژوهش Adlard و همکاران ژن فاکتور مورد نظر را اندازه‌گیری کردند، در صورتی که نویسندگان تحقیق حاضر مقادیر

فیزیولوژیک بدن (۷)، به نظر می‌رسد که می‌توان از یافته‌های مطالعه حاضر و مطالعات مشابه با در نظر گرفتن ملاحظات خاص در شرایط فوق استفاده نموده و به بهبود وضعیت سالمندان و افرادی که در شرایط استراحت مطلق به سر می‌برند کمک نمود. با این حال با توجه به محدود بودن مطالعات، نیاز به انجام پژوهش‌های بیشتری در این زمینه احساس می‌شود. همچنین به محققان پیشنهاد می‌گردد که در تحقیقات پیش رو، تاثیر شیوه‌های مختلف تمرینی مانند ورزش با تردمیل‌های ضد جاذبه و آبی در نمونه‌های انسانی و نیز بررسی ابعاد فیزیولوژیک متاثر از شرایط بی‌وزنی مانند تغییرات قلبی، اسکلتی-عضلانی و جنبه‌های متابولیک پیردازند.

قردانی

این پژوهش حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی فعالیت ورزشی به شماره ۵۷۹/۳۰۰۰ پ بوده که با حمایت دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه خوارزمی تهران و گروه فیزیولوژی پژوهشگاه هوافضا انجام شد. در پایان از همکاری کلیه مسئولین و کارکنان این مراکز تقدیر و تشکر میشود.

منابع مالی

ندارد

منافع متقابل

مؤلفان اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار این مقاله ندارند.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس قوانین بین‌المللی کشور استرالیا (۱۸) انجام شد.

مشارکت مولفان

م، ا، ع ک و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشته‌اند. همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده‌اند.

سرمی را بررسی نمودند. از طرفی آنان گزارش کردند که مقدار BDNF تنها پس از هفته اول افزایش نشان داد و پس از پایان هفته دوم تمرینات تا نزدیکی سطوح پایه کاهش یافت که می‌تواند نشان دهنده تاثیر سازگاری با تمرین ورزشی باشد. سطوح پایین BDNF استراحتی پس از انجام یک دوره تمرین ورزشی می‌تواند نشانگر مقدار کلیرنس بیشتر و موثر آن باشد. علاوه بر این افزایش حجم پلاسما ناشی از تمرینات ورزشی نیز دلیل دیگری بر عدم افزایش قابل توجه در مقدار BDNF سرمی باشد (۲۱). در بررسی گروه تعلیق + تمرین استقامتی نتایج افزایش و اختلاف معنی‌داری را در سطوح سرمی BDNF نسبت به سایر گروه‌های تحقیق نشان داد. از دلایل احتمالی این افزایش قابل توجه را می‌توان بروز فشار فیزیکی بیشتر حاصل از تغییر زاویه اندام جلویی موش‌ها با تنه هنگام قرارگیری در شرایط تعلیق و انجام فعالیت ورزشی، که سبب ایجاد کشش در عضلات فعال و افزایش قابل توجه در میزان انقباضات استریک (برونگرا) اندام جلویی در مقایسه با فعالیت ورزشی در شرایط طبیعی (گراوتی = IG) نام برد. در مطالعه دیگری Barzegar و همکاران گزارش کردند که فعالیت ورزشی بر روی سطح شیب‌دار تاثیر بیشتری بر مقادیر BDNF هیپوکمپ موش‌های صحرایی در مقایسه با فعالیت بر روی سطح صاف دارد (۲۲). همچنین در مطالعات متعدد بیان شده که ارتباط مثبتی بین شدت فعالیت استقامتی و مقادیر خونی BDNF وجود دارد (۲۲، ۲۳). از طرفی در مطالعات متعدد گزارش شده است که فعالیت ورزشی منظم میزان آپوپتوز را از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتیک Bax و افزایش پروتئین آنتی آپوپتیک Bcl-2 کاهش می‌دهد (۲۴، ۲۵)، که این می‌تواند سبب تعدیل مثبت BDNF ناشی از ورزش در شرایط بی‌وزنی گردد.

نتیجه‌گیری

با توجه به کاهش توده عضلانی (۴، ۶) و اختلال در عملکرد عصبی متعاقب با قرارگیری در شرایط بی‌وزنی (۶)، به نظر می‌رسد که تمرین استقامتی در این شرایط باعث افزایش مقادیر BDNF می‌گردد که می‌تواند سبب کاهش اختلالات عصبی در فضانوردان در هنگام قرارگیری در فضا شود. همچنین با توجه به تاثیر تقریباً مشابه عوارض ناشی از شرایط بی‌وزنی با شرایطی همچون استراحت مطلق در بستر و سالمندی بر روی سیستم‌های

References

1. Adams G R, Caiozzo V J, Baldwin K M. Skeletal muscle unweighting: spaceflight and ground-based models. *Journal of Applied Physiology* 2003; **95**(6): 2185-2201. doi: 10.1152/jappphysiol.00346.
2. Trappe S, Costill D, Gallagher P, Creer A, Peters J R, Evans H, et al. Exercise in space: human skeletal muscle after 6 months aboard the International Space Station. *Journal of applied physiology* 2008; **106**(4): 1159-1168. doi: 10.1152/jappphysiol.91578.
3. Fitts R, Trappe S, Costill D, Gallagher P M, Creer A C, Colloton P, et al. Prolonged space flight-induced alterations in the structure and function of human skeletal muscle fibres. *The Journal of Physiology*

- 2010; **588**(18): 3567-3592. doi: 10.1113/jphysiol.2010.188508
4. Gunga H C. *Human physiology in Exterme Environments*. San Diego, California, Academic Press, Elsevier Ltd. 2014; PP: 273-311.
5. Jack H. Wilmore David. El Castile. *Sport and Exercise physiology*. Translated by Moini Z et al. Tehran, Mobtakeran publication. 2006; PP: 389-405.
6. Peter A. Farrell MJJ, Vincent J. Caiozzo. *ACSMs advanced exrrcise physiology*. 2nd ed. Philadelphia, Wolters Klumer Health/Lippincott Williams, American College of Sports Medicine. 2012; PP: 658-665.
7. Robergs RASJK. *Fundamentals of Exersice Physiology: for fitness, performance, and Health*. 2nd ed. translated by Gaeini A, Dabidi Roshan V. Tehran, Samt publication. 2003; PP: 256-273.
8. David J R, Arnold d H. *Skeletal muscle (molecule to activity)*. Translated by Gharakhanloo R and Arshadi S et al. Tehran, Hatmi publication. 2014; PP: 208-215.
9. Katafuchi T, Yoshimatsu H, Oomura Y. Responses of lateral hypothalamic neurons to simulative hypogравic condition induced by body suspension. *Brain Research Bulletin* 1984; **12**(1): 29-31. doi: 10.1016/0361-9230(84)90211-9.
10. Noshadi V, Bahrami M, Yazdan Panah Sh. *Space Medical and Physiology*. Aerospace Research Institute 2006.
11. Pencea V, Bingaman K D, Wiegand S J, Luskin M B. Infusion of brain-derived neurotrophic factor into the lateral ventricle of the adult rat leads to new neurons in the parenchyma of the striatum, septum, thalamus, and hypothalamus. *Journal of Neuroscience* 2001; **21**(17): 6706-6717.
12. Mizuno M Y, Olariu A, Nawa H, Nabeshima T. Involment of brain-draivedneurotrophic factor in spatial memory formation and maintenance in aradial arm maza test in rats. *J Neuroscience* 2000; **20**(18): 7116-7121. doi:10.1038/sj.mp.4001215
13. Lee S, Moore Jr AD, Fritsch-Yelle J M, Greenisen M C, Schneider S. Inflight exercise affects stand test responses after space flight. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1999; **31**(12): 1755-1762.
14. Lloyd P G, Prior B M, Yang H T, Terjung R L. Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2002; **284**(5): 1668-1678. doi: 10.1152/ajpheart.00743.
15. Gardiner P. *Advanced neuromuscular exercise physiology*. Canada, Human Kinetics. 2011; PP: 211-217.
16. Naumenko V, Kulikov A, Kondaurova E, Tsybko A, Kulikova E, Krasnov I, et al. Effect of actual long-term spaceflight on BDNF, TrkB, p75, BAX and BCL-X L genes expression in mouse brain regions. *Neuroscience* 2014; **284**: 730-736. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.10.045.
17. Morey-Holton E R, Globus R K. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects. *Journal of Applied Physiology* 2001; **92**(4): 1367-1377. doi: 10.1152/japplphysiol.00969.
18. Canberra. National Health and Medical Research Council. *Australian code for the care and use of animals for scientific purposes*. 2013. 8th ed.
19. Schiffer T, Schulte S, Hollmann W, Bloch W, Strüder H. Effects of strength and endurance training on brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor 1 in humans. *Hormone and Metabolic Research* 2009; **41**(03): 250-254. doi: 10.1055/s-0028-1093322.
20. Ferreira A F, Real C C, Rodrigues A C, Alves A S, Britto L R. Short-term, moderate exercise is capable of inducing structural, BDNF-independent hippocampal plasticity. *Brain Research* 2011; **1425**: 111-122. doi: 10.1016/j.brainres.2011.10.004
21. Adlard P A, Perreau V M, Cotman C W. The exercise-induced expression of BDNF within the hippocampus varies across life-span. *Neurobiology of Aging* 2004; **26**(4): 511-520. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2004.05.006
22. Barzegar H, Vasadi E, Barjian M. The effect of different training exercise brain-derived neurotrophic factor in rat. *Exercise Physiology* 1393; **24**(6): 99-10. [In persian]
23. Ferris L T, Williams J S, Shen C-L. The effect of acute exercise on serum brain-derived neurotrophic factor levels and cognitive function. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 2007; **39**(4): 728-734. doi: 10.1249/mss.0b013e31802f04c7
24. Barbosa Dos Santos G, Machado Rodrigues Mj, Goncalves EM, Cintra Gomes Marcondes MC, Areas MA. Melatonin reduces oxidative stress and cardiovascular changes induced by stanazolol in rats exposed to swimming exercise. *Eurasian J Med* 2013; **45**(3): 155-162.
25. Santana E T, Serra A J, Silva Junior J A. Aerobic exercise training induces an anti-apoptotic milieu in myocardial tissue. *Motriz: Rev* 2014; **20**(2): 233-238. doi: 10.1590/S1980-65742014000200015.

Original Article

The Effect of Eight -Week Aerobic Exercise and consumption of curcumin on IL1 β and depression in 60-65 Years Old Women with Syndrome Metabolic

Osali Ali 

Department of Exercise Physiology, Tehran University, Tehran, Iran.

*Corresponding author; E-mail: osalialiphd@gmail.com

Received: 15 November 2016 Accepted: 12 February 2017 First Published online: 13 December 2018

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):23-30

Abstract

Background: Metabolic syndrome and aging are main important factors in being depress. The aim of this research was to investigate the effect of eight -week aerobic exercise with moderate intensity and consumption of curcumin on IL1 β and depression in 60-65 years old women with metabolic syndrome.

Methods: a total of 44 women with metabolic syndrome (MetS) voluntarily took part in the present study. Participants were randomly divided in 4 groups of MetS exercise+ Curcumin (MECU), MetS exercise (ME), MetS Curcumin (MCU), MetS control (MC). During the first week MECU group and ME participated in three sets of ten-minute aerobic exercise training (AT) with treadmill (AT) also they have 5 minute rest part between the sets. One minute was added to the duration of exercise sets weekly basis. Beck depression questionnaire and blood samples were conducted before and after eight -week. IL1 β was measured by ELISA method and memory test were conduct with Picture recall test. To analyze the data, researcher made use of One-Way ANOVA, paired-sample t-test with the significance level of ($P \leq 0.05$).

Results: IL1 β and depression significantly decreased in three experimental groups ($P \leq 0.05$) as effects of tow-month aerobic exercise. Also there was significant change in blood pressure, waist circumferences, fat percentage, triglyceride and HDL ($P \leq 0.05$).

Conclusion: These findings indicated that eight -week aerobic exercise leaded to a decrease in depression and amelioration in metabolic syndrome. It is also probable that depression decrease as an effect of tow-month aerobic exercise relate with IL1 β decrease.

Keywords: Aerobic exercise, IL1 β , Depression, Metabolic syndrome, Curcumin

How to cite this article: Osali A. [The Effect of Eight -Week Aerobic Exercise and consumption of curcumin on IL1 β and depression in 60-65 Years Old Women with Syndrome Metabolic]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):23-30. Persian.

مقاله پژوهشی

تاثیر ۸ هفته تمرین هوازی و مصرف کورکومین بر IL1β و افسردگی زنان ۶۰-۶۵ ساله مبتلا به سندرم متابولیک

علی اوصالی 

فیزیولوژی ورزشی، تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
نویسنده مسوول: ایمیل: osalialiphd@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۵/۸/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۴ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ آذر و دی؛ ۴۰(۵):۲۳-۳۰

چکیده

زمینه: سندرم متابولیک و افزایش سن از عوامل موثر بر افسردگی می‌باشند. هدف از این تحقیق بررسی اثرگذاری ۸ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط و مصرف کورکومین بر IL1β و افسردگی زنان ۶۰-۶۵ ساله مبتلا به سندرم متابولیک می‌باشد.

روش کار: ۴۴ زن مبتلا به سندرم متابولیک به طور داوطلبانه در این تحقیق شرکت کردند. آزمودنی‌ها به طور تصادفی به گروه مکمل+تمرین، تمرین، مکمل و کنترل تقسیم شدند. گروه تمرین+مکمل و گروه تمرین، هفته اول سه ست ۱۰ دقیقه‌ای با فواصل استراحت پنج دقیقه با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای تمرینات خود را را توسط تردمیل انجام دادند. با سپری شدن هر هفته، یک دقیقه به مدت زمان ست‌های تمرین افزوده می‌شد. در دو مرحله از آزمودنی‌ها خونگیری و آزمون بک انجام شد. سطوح IL1β به روش الایزا مورد بررسی قرار گرفت. برای تجزیه تحلیل داده‌ها از روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه، تی جفتی استفاده گردید و سطح معنی‌داری ($P \leq 0.05$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: میزان سطوح پلاسمایی IL1β و افسردگی در سه گروه تجربی کاهش معنی‌داری یافتند ($P \leq 0.05$). همچنین کاهش فشارخون، سایز دور کمر، درصد چربی بدن، تری‌گلیسرید خون و افزایش HDL در هر سه گروه تجربی معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری: در اثر هشت هفته اعمال مداخله افسردگی کاهش و سندرم متابولیک بهبود یافت. این احتمال وجود دارد که کاهش افسردگی در اثر هشت هفته مداخله در ارتباط با کاهش IL1β و بهبودی سندرم متابولیک باشد.

کلیدواژه‌ها: تمرین هوازی، IL1β، افسردگی، سندرم متابولیک، کورکومین

نحوه استناد به این مقاله: اوصالی ع. تاثیر ۸ هفته تمرین هوازی و مصرف کورکومین بر IL1β و افسردگی زنان ۶۰-۶۵ ساله مبتلا به سندرم متابولیک. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵):۲۳-۳۰

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

پیری واقعی اجتناب ناپذیر است، افزایش جمعیت سالمند در سراسر دنیا موضوع مورد توجه و بسیار مهم می باشد بطوریکه سازمان جهانی بهداشت تعداد کل سالمندان دنیا را در سال ۲۰۰۶ حدود ۷۰۰ میلیون نفر برآورد کرده است و در ۴۰ سال آینده به ۲ برابر خواهد رسید. در ایران نیز جمعیت بالای ۶۰ سال تا سال ۲۰۲۰ حدود ۱۰ میلیون نفر و تا سال ۲۰۵۰ به بیش از ۲۶ میلیون نفر خواهد رسید (۱). با توجه به شرایط اجتماعی و خانوادگی سالمند، ۱۲ تا ۱۶٪ افراد سالمند افسرده می شوند (۱). افسردگی کیفیت زندگی سالمندان را کاهش داده و وابستگی های آنها را به دیگران افزایش می دهد (۱). افسردگی باعث افزایش مصرف دارو، افزایش مدت بستری و هزینه های مراقبتی می شود (۱). همچنین پیش بینی می شود شیوع آن به بیش از ۱۵-۲۰ درصد افزایش یابد (۱،۲). از علائم افسردگی، غم، زود رنجی، کاهش علاقه برای فعالیت های مفرح، افزایش و کاهش معنی دار وزن، بی خوابی یا خواب زیاد، کاهش حافظه، کاهش میل جنسی، خستگی، از دست دادن انرژی، احساس بی ارزشی دنیا، احساس گناه بیش از اندازه، کاهش قدرت تمرکز و افزایش میل به خودکشی می باشد (۲-۴). از نظر زیست شناختی افسردگی یک اختلال انگیزشی است که در اثر کمبود آمین های بیوژنیک ایجاد می شود. آمین های بیوژنیک مواد نوروشیمیایی هستند که انتقال عصبی را تسهیل می کنند و نقش مهمی در آسیب شناسی اختلالات خلقی دارند. گمانه زنی درباره مبنای نوروشیمیایی افسردگی، اغلب پیرامون کاهش سرتونین و نوراپی نفرین می باشد (۵). سطح سرتونین در ارتباط با مقدار تریپتوفان موجود در خون می باشد. محققان نشان داده اند ۱۰٪ از تریپتوفان به صورت آزاد در خون می باشد و تریپتوفان آزاد قابلیت ورود به مغز را دارد و مابقی آن متصل به آلبومین می باشد. جایگاه اتصال تریپتوفان و اسیدهای چرب به آلبومین یکسان می باشد. برخی از پژوهشگران نشان دادند که ورزش هوازی طولانی مدت موجب افزایش فراخوانی اسیدهای چرب و در نتیجه به علت رقابتی بودن اتصال اسید چرب و تریپتوفان در اتصال به آلبومین، میزان تریپتوفان آزاد در خون افزایش می یابد و از اینرو میزان سرتونین در مغز افزایش می یابد (۶-۸). کورکومین در کشور چین و هند برای درمان برخی بیماری ها مورد استفاده قرار می گرفت (۹). مطالعات بنیادی انجام گرفته شده در خصوص خواص دارویی کورکومین نشان دهنده تاثیر آن بر کاهش قند خون (۱۰) اثرات ضد التهابی و کاهندگی التهاب مفصلی (۲) و خواص آنتی اکسیدانی (۱۱) زردچوبه می باشد (۲). افزایش سن و سندرم متابولیک همراه با افزایش التهاب مزمن می باشد (۱). همچنان که Zorilla و همکاران (۲۰۰۱) و Mossner و همکاران (۲۰۰۷) اشاره نمودند افزایش عوامل التهابی در ارتباط با کاهش سرتونین می باشد (۱۲، ۱۳). مصرف مکمل کورکومین موجب کاهش $IL1\beta$ می گردد

(۱۴). همچنین کورکومین بازدارندهی هر دوی منوآمین اکسیداز A و B می باشد. منوآمین اکسیداز A و B اکسیدکنندهی دوپامین، نوراپی نفرین و سرتونین می باشند که مصرف کورکومین از اکسیده شدن آنها و در نتیجه از کاهش سطح دوپامین، نوراپی نفرین و سرتونین می کاهد (۱۶، ۱۵، ۲).

با توجه به اینکه ورزش و مکمل کورکومین هر دو، هم موجب کاهش التهاب و هم موجب افزایش سرتونین می شوند می توان از ورزش و مصرف مکمل کورکومین به عنوان یک راهبرد درمانی در بهبود افسردگی های شدید استفاده کرد (۱۵، ۱۴، ۵). در این خصوص تحقیقات بسیار اندکی انجام شده است که در زیر به آنها اشاره می نمایم. همچنین تاکنون در هیچ تحقیقی به تاثیر همزمان تمرین هوازی و مصرف کورکومین بر کاهش افسردگی پرداخته نشده است. مطالعه Legrand و همکاران تاثیر پیاده روی منظم را بر کاهش علائم افسردگی زنان را نشان داد (۱۷). همچنین Mokhtari و همکاران تاثیر ۱۲ هفته تمرین هوازی را بر کاهش میزان افسردگی گزارش نمودند (۱۸). Dey و همکاران تاثیر ۴ هفته شنا با شدت متوسط را موثر در بهبودی رفتار افراد افسرده اظهار نمودند (۱۹). Kulkarni و همکاران مصرف مکمل کورکومین را موثر در کاهش افسردگی یافتند (۱۵). همچنین Donohue و همکاران (۲۰۰۴) عدم تاثیر تمرین ورزشی را بر افسردگی جوانان ورزشکار گزارش نمودند (۲۰). انجام این تحقیق از اینرو مورد توجه می باشد که در تحقیقات بنیادی اشاره بر ارتباط افسردگی و عوامل التهابی شده است ولی در هیچ تحقیق کاربردی تاثیر تمرین هوازی و مصرف مکمل کورکومین بر افسردگی و $IL1\beta$ مورد بررسی قرار نگرفته است.

روش کار

روش بررسی تجربی، از نوع بررسی های کاربردی می باشد و طرح پژوهشی شامل پیش آزمون و پس آزمون با یک گروه شاهد و سه گروه تجربی بود. پس از پخش آگهی در اداره کل بنیاد شهید و امور ایثارگران استان زنجان و ارسال دعوت نامه به همسران شهید ۵۰ تا ۶۵ ساله ی شهرستان زنجان، در آغاز تحقیق ۷۰ نفر جهت همکاری و شرکت در پژوهش به عنوان آزمودنی اعلام آمادگی کردند. این ۷۰ نفر توسط پزشک و روانپزشک از لحاظ سوابق بیماری و ناراحتی های جسمانی، مشکلات روانشناختی، خواب و فشارخون معاینه شدند. و در صورت نیاز از برخی از آنها تست سلامت قلب به عمل آمد. از ۷۰ نفر ۴۴ نفر مبتلا به سندرم متابولیک بودند. لازم به ذکر است که در این تحقیق از ملاک ATP III (Adult treatment panel iii) برای شناسایی شاخص های خطر متابولیک استفاده شد. شاخص های خطر متابولیک عبارت از: دور کمر بیش از ۹۴ سانتی متر، تری گلیسرید خون بیش از ۱۵۰

سانتریفوژ (۱۲ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه) و جداسازی پلاسما، سطوح پلاسمایی IL1 β به روش الیزا توسط کیت ویژه سنجش مقدار IL1 β (eBioscience, Vienna, Austria) با حساسیت ۰/۰۵pg/mL اندازه‌گیری شد. مقدار گلوکز خون به روش گلوکز اکسیداز و سطوح چربی به روش آنزیماتیک استاندارد (کیت پارس آزمون، کرج، ایران) با استفاده از دستگاه اتوانالایزر بیوشیمی مدل کوباس میرا اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات این کیت در هر سنجش و بین سنجش‌های مختلف (inter-assay variation) به ترتیب برای تری‌گلیسرید برابر با ۱/۸۲٪ و ۱/۶٪، برای قند خون برابر با ۱/۷۴٪ و ۱/۱۹٪ و برای HDL برابر با ۲/۱۵٪ و ۱/۲۸٪ بود (۲۳،۲۴). جهت بررسی میزان افسردگی از پرسشنامه افسردگی بک استفاده شد (۲۵). این پرسش‌نامه حاوی ۲۱ سوال می‌باشد. هر سوال چهار گزینه دارد. گزینه اول صفر امتیاز، گزینه دوم ۱ امتیاز، گزینه سوم ۲ امتیاز و گزینه چهارم ۳ امتیاز دارد. پس از تکمیل پرسش‌نامه طبق امتیاز بدست آمده سطح افسردگی افراد مشخص می‌گردد. به ترتیب اگر مجموع امتیاز فرد بین ۱-۱۰ باشد میزان افسردگی فرد نرمال، ۱۱-۱۶ کمی افسرده، ۱۷-۲۰ نیازمند مراجعه به روان‌پزشک یا روان‌شناس، ۲۱-۳۰ متوسط، ۳۱-۴۰ شدید و ۴۰ به بالا افسردگی بیش از حد تلقی می‌گردد (۲۵).

درصد چربی بدن آزمودنی‌ها توسط دستگاه بادی‌کامپوزیشن مدل BF500 OMRON ساخت کشور آلمان محاسبه گردید. آزمودنی‌ها قبل از شروع پروتکل تمرینی (ابتدا، اواسط و انتهای هفته) مواد غذایی مصرفی روزانه را در برگه یادداشت ثبت نمودند و سپس کالری مواد غذایی مصرف شده در صبحانه، میان وعده‌ها، نهار و شام توسط نرم افزار N4 محاسبه گردید (۱). طبق نتایج جدول ۱ تفاوتی در مجموع کالری دریافتی گروه‌ها مشاهده نگردید. برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. برای بررسی تغییرات بین گروهی از روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه و برای مقایسه درون گروهی از آزمون آماری تی جفتی استفاده گردید. سطح معنی‌داری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. لازم بذکر است برای مقایسه بین گروهی ابتدا اختلاف پیش آزمون و پس آزمون را محاسبه کردیم و سپس توسط آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه داده‌ها تجزیه و تحلیل شدند و در صورت معنی‌داری نیز از آزمون تعقیبی LSD استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج مقایسه درون گروهی شاخص‌های سندرم متابولیک، BMI، وزن، درصد چربی بدن، IL1 β و افسردگی گروه EM و CM در جدول ۲ قابل مشاهده می‌باشد. در جدول ۲ به نتایج مقایسه درون گروهی مقادیر شاخص سندرم متابولیک، وزن، درصد چربی، BMI، IL1 β و افسردگی اشاره شده است. نتایج آزمون آماری تی جفتی نشان از تاثیر معنی‌دار تمرین دو ماهه‌ی

میلی گرم بر دسی لیتر، HDL خون کمتر از ۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر، فشار خون بیش از ۱۳۰/۸۵ میلی مترجیوه و گلوکز خون ناشتای بالاتر از ۱۱۰ میلی گرم بر دسی لیتر. به بیان دیگر، افراد داوطلب در صورت دارا بودن سه و یا بیش از سه شاخص به عنوان آزمودنی دارای سندرم متابولیک لحاظ می‌شدند. همچنین هیچ یک از آزمودنی‌ها در طی یک سال گذشته، سابقه شرکت در فعالیت بدنی منظم نداشتند (۱،۲۱). آزمودنی‌ها مجاز بودند تمرینات خود را در ساعت ۹ تا ۱۲ صبح انجام دهند. طول دوره تمرین هشت هفته بود. هر هفته ۳ روز به تمرین می‌پرداختند. هر جلسه، تمرینات در قالب سه ست متوالی با فاصله استراحت ۵ دقیقه در بین ست‌ها انجام می‌شد. زمان ست‌های تمرینی در هفته اول، ۱۰ دقیقه بود و با سپری شدن هر هفته، یک دقیقه به مدت زماست‌های تمرین افزوده می‌شد، به طوری که در هفته هشتم مدت زمان دو به وسیله تردمیل به سه ست ۱۷ دقیقه‌ای رسید. تمرین با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای انجام می‌گرفت. لازم به ذکر است که ضربان قلب استراحتی، هر هفته چک می‌شد و شدت برنامه تمرین از روی آن با استفاده از دستگاه ضربان سنج پلار (Polar: Finland) تنظیم می‌شد. کل جلسات - تمرین با ۵ دقیقه گرم کردن (نرمش و تمرینات کششی) آغاز می‌شد و در پایان نیز ۵ دقیقه سرد کردن وجود داشت. گروه کنترل در این مدت هشت هفته‌ای، از انجام فعالیت‌بدنی غیرمعمول منظم اجتناب کردند. ضربان قلب ذخیره از طریق فرمول کاروونن محاسبه گردید (۱).

ضربان قلب استراحت + [(۶۰ تا ۷۰)٪] * (ضربان قلب استراحت - حداکثر ضربان قلب) = ۶۰ تا ۷۰٪ ضربان قلب ذخیره‌ای ضربان قلب زمان بیدار شدن از خواب و قبل از برخاستن از رختخواب به حالت دراز کشیده = ضربان قلب استراحت مصرف مکمل کورکومین روزانه ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بود. لازم بذکر است مکمل همراه با وعده‌های اصلی غذایی دریافت می‌شد و آزمودنی‌ها مجاز بودند مکمل خود را یا به صورت محلول قبل از وعده‌های اصلی یا به هنگام پخت غذا به غذا اضافه نموده و مصرف نمایند (۲۲).

از تمام آزمودنی‌ها در دو مرحله شامل پیش‌آزمون و پس آزمون (بعد از هشت هفته)، خون‌گیری به صورت ناشتا در ساعت ۹ صبح (برای اندازه‌گیری سطوح پلاسمایی IL1 β و سرمی گلوکز، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین پرچگال پلاسما) به عمل آمد. البته لازم به ذکر می‌باشد جهت حذف تاثیرات حاد ورزش از جمله کوفتگی تاخیری و آسیب‌های احتمالی کوچک در ساختار عضله بر سطوح IL1 β ، خون‌گیری در مرحله پس آزمون چهار روز پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی انجام شد (۲۳،۲۴). در هر بار خون‌گیری، بخشی از نمونه‌های خونی (۲ سی‌سی) سیاهرگ‌بازوئی در تیوب‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شدند و پس از

هوازی به همراه مصرف مکمل بر کاهش فشار خون، تری گلیسرید، ساین دور کمر، BMI، وزن، درصد چربی بدن، $IL1\beta$ می‌باشد. همچنین نتایج گروه تمرین کرده و مکمل مشابه گروه تمرین+مکمل می‌باشد (جدول ۲).

در مقایسه بین گروهی میزان کاهش افسردگی و $IL1\beta$ گروه تمرین+مکمل نسبت به گروه تمرین و مکمل بیشتر بود و این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد (جدول ۴).

جدول ۱: نتایج مقایسه شاخص‌های تغذیه‌ای قبل از شروع تحقیق

Sig	گروه کنترل (۱۰ نفر)	گروه مکمل (۱۰ نفر)	گروه تمرین (۱۲ نفر)	گروه مکمل+تمرین (۱۲ نفر)	
۰/۱۱	۳۴۷/۹۵۰±۲۰۹/۶۹	۳۳۸/۳۱±۲۲۱/۴۰	۳۳۵/۵۴±۱۹۸/۴۳	۳۵۲۳/۷۸±۲۱۳/۵۶	کل کالری دریافتی
۰/۶۲	۵۳۸/۵۴±۷۳/۸۱	۵۴۳/۶۳±۶۹/۷۰	۵۲۲/۳۸±۸۱/۲۶	۵۳۰/۵۲±۷۵/۲۹	کالری دریافتی از پروتئین
۰/۴۳	۱۹۸۷/۸۳±۶۸۳/۵	۱۹۴۲/۳۹±۸۶/۲۵	۱۹۲۳/۵۹±۱۴۱/۸۲	۱۹۳۰/۴۸±۱۱۲/۶۳	کالری دریافتی از کربوهیدرات
۰/۳۸	۱۰۶۷/۴۱±۳۴/۶۳	۹۰۳/۷۱±۸۰/۸۳	۹۱۲/۲۸±۹۶/۴۴	۱۰۶۳/۴۳±۶۷/۷۲	کالری دریافتی از چربی

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. معناداری در سطح $P \leq 0.05$

جدول ۲: مقایسه درون گروهی شاخص‌های سندرم متابولیک، BMI، وزن و درصد چربی بدن، $IL1\beta$ و افسردگی

متغیر	زمان	تمرین+مکمل	sig	تمرین	sig	مکمل	sig	کنترل	sig
فشارخون (mmHg)	پیش‌آزمون	۱۴۲/۸۳±۱۲/۸۸	۰/۰۰	۱۴۲/۴۱±۱۵/۵۲	۰/۰۰	۱۴۵/۷۰±۱۲/۶۵	۰/۲۱	۱۴۹/۹۰±۱۶/۴۹	۰/۳۸
	۸ هفته بعد	۱۲۳/۵۰±۳۰/۷۲	۰/۰۰	۱۳۲/۲۵±۷/۰۷	۰/۰۰	۱۴۴/۰۰±۱۲/۰۰	۰/۰۰	۱۵۱/۵۰±۱۲/۹۱	۰/۳۸
دور کمر (cm)	پیش‌آزمون	۱۰۴/۶۶±۷/۱۳	۰/۰۰	۱۰۴/۵۸±۶/۲۸	۰/۰۰	۱۰۵/۱۰±۷/۶۳	۰/۰۳	۱۰۵/۵۰±۷/۶۴	۰/۸۲
	۸ هفته بعد	۹۶/۰۸±۵/۳۵	۰/۰۰	۱۰۱/۰۸±۵/۶۱	۰/۰۰	۱۰۳/۹۰±۶/۸۷	۰/۰۰	۱۰۵/۸۳±۷/۲۴	۰/۸۲
گلوکز (mg/dl)	پیش‌آزمون	۱۴۵/۸۳±۵۷/۵۹	۰/۰۱	۱۵۳/۰۰±۵۵/۸۹	۰/۰۲	۱۷۴/۶۰±۵۵/۶۱	۰/۰۱	۱۷۶/۹۰±۵۲/۸۷	۰/۰۸
	۸ هفته بعد	۱۰۴/۵۸±۹/۰۱	۰/۰۱	۱۳۵/۸۳±۵۴/۹۲	۰/۰۱	۱۴۲/۹۰±۳۱/۰۸	۰/۰۱	۱۷۸/۸۰±۵۴/۰۵	۰/۰۸
تری گلیسرید (mg/dl)	پیش‌آزمون	۲۲۳/۲۵±۶۶/۷۵	۰/۰۰	۲۱۲/۰۸±۷۶/۹۴	۰/۰۰	۲۱۰/۲۵±۵۵/۴۱	۰/۰۰	۱۹۸/۶۰±۵۶/۹۶	۰/۴۵
	۸ هفته بعد	۱۵۶/۸۳±۴۲/۴۸	۰/۰۰	۱۹۹/۰۸±۷۱/۰۱	۰/۰۰	۱۷۷/۹۰±۳۵/۲۷	۰/۰۰	۱۹۴/۲۰±۵۰/۳۱	۰/۴۵
HDL (mg/dl)	پیش‌آزمون	۴۷/۵۰±۷/۸۵	۰/۰۰	۴۶/۵۸±۷/۳۶	۰/۰۰	۴۶/۰۰±۳/۹۱	۰/۰۰	۴۴/۱۰±۳/۸۴	۰/۱۲
	۸ هفته بعد	۶۱/۱۶±۱۱/۷۴	۰/۰۰	۵۳/۶۶±۶/۹۷	۰/۰۰	۵۳/۰۰±۳/۹۷	۰/۰۰	۴۲/۹۰±۳/۱۰	۰/۱۲
BMI (kg/m2)	پیش‌آزمون	۳۱/۰۷±۲/۷۵	۰/۰۰	۳۰/۷۱±۲/۱۰	۰/۰۰	۲۹/۲۷±۱/۶۷	۰/۰۰	۲۹/۳۱±۱/۴۹	۰/۱۲
	۸ هفته بعد	۲۸/۸۸±۲/۵۱	۰/۰۰	۲۹/۸۷±۲/۰۶	۰/۰۰	۲۸/۶۳±۱/۶۳	۰/۰۰	۲۹/۴۱±۱/۵۳	۰/۱۲
وزن (Kg)	پیش‌آزمون	۷۴/۸۶±۵/۳۵	۰/۰۰	۷۴/۲۶±۵/۸۸	۰/۰۰	۷۴/۰±۶/۸۴	۰/۰۰	۷۴/۷۲±۵/۳۳	۰/۱۱
	۸ هفته بعد	۶۹/۶۰±۴/۸۳	۰/۰۰	۷۲/۲۰±۵/۵۲	۰/۰۰	۷۲/۴۱±۶/۷۴	۰/۰۰	۷۴/۹۷±۵/۳۳	۰/۱۱
درصد چربی بدن	پیش‌آزمون	۳۹/۰۹±۴/۴۶	۰/۰۰	۳۸/۷۶±۵/۲۳	۰/۰۰	۳۷/۴۰±۴/۸۳	۰/۰۰	۳۵/۷۰±۶/۸۴	۰/۰۰
	۸ هفته بعد	۳۱/۶۶±۳/۵۷	۰/۰۰	۳۵/۷۵±۳/۹۵	۰/۰۰	۳۵/۶۰±۴/۱۴	۰/۰۰	۳۶/۴۰±۶/۹۴	۰/۰۰
$IL1\beta$ (pg/mL)	پیش‌آزمون	۴/۹۹±۱/۲۳	۰/۰۰	۵/۳۰±۰/۸۳	۰/۰۰	۴/۸۶±۰/۸۴	۰/۰۰	۴/۸۲±۰/۷۹	۰/۹۲
	۸ هفته بعد	۲/۷۰±۰/۶۷	۰/۰۰	۳/۹۵±۰/۵۶	۰/۰۰	۳/۷۶±۰/۶۲	۰/۰۰	۴/۸۱±۰/۷۲	۰/۹۲
افسردگی	پیش‌آزمون	۲۱/۵۸±۲/۴۶	۰/۰۰	۲۱/۲۵±۵/۶۴	۰/۰۰	۲۰/۹۰±۴/۷۴	۰/۰۰	۲۱/۷۰±۵/۳۷	۰/۰۸
	۸ هفته بعد	۱۰/۰۰±۳/۱۶	۰/۰۰	۱۵/۰۰±۳/۳۳	۰/۰۰	۱۷/۰۰±۴/۲۶	۰/۰۰	۲۲/۰۰±۵/۵۳	۰/۰۸

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. معناداری در سطح $P \leq 0.05$

جدول ۳: مقایسه بین گروهی شاخص‌های سندرم متابولیک، BMI، وزن و درصد چربی بدن، $IL1\beta$ و افسردگی پیش‌آزمون

متغیر	F	sig
فشارخون (mmHg)	۰/۶۰	۰/۶۱
دور کمر (cm)	۰/۰۳۸	۰/۹۹
گلوکز (mg/dl)	۰/۸۵	۰/۴۷
تری گلیسرید (mg/dl)	۰/۲۶	۰/۸۵
HDL (mg/dl)	۰/۵۷	۰/۶۳
BMI (kg/m2)	۲/۱۵	۰/۱۰
وزن (Kg)	۰/۰۴۹	۰/۹۸
درصد چربی بدن	۰/۸۸	۰/۴۵
$IL1\beta$ (pg/mL)	۱۹/۸۶	۰/۰۰
افسردگی	۰/۰۵۲	۰/۹۸

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. معناداری در سطح $P \leq 0.05$

جدول ۴: مقایسه بین گروهی سطوح پلاسمایی IL1β و افسردگی پس از دو ماه

متغیر	گروه	sig	گروه	sig	گروه	sig
IL1β (pg/mL)	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰
	تمرین + مکمل	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰
	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰
افسردگی	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰
	تمرین + مکمل	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰
	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. معناداری در سطح $P \leq 0/05$

بحث

میزان افسردگی و IL1β پس از دو ماه تمرین هوازی و مصرف زردچوبه کاهش معنی‌داری یافتند. کاهش افسردگی با نتایج Hematfar و همکاران (۲۰۱۲)، HekmatiPour و همکاران (۲۰۱۳)، Mokhtari و همکاران (۲۰۱۳) و Osali و همکاران (۲۰۱۶) همخوانی دارد (۱۵، ۱۸، ۲۶). HekmatiPour و همکاران تاثیر ۴ هفته تمرین، هر هفته ۴ جلسه به مدت ۲۵ دقیقه را موثر بر کاهش افسردگی افراد سالمند گزارش نمود (۲۶). Hematfar و همکاران ۸ هفته تمرین هوازی را موثر در کاهش افسردگی و افزایش سرتونین دانشجویان ۱۸-۲۵ ساله گزارش نمود (۵). همچنین Mokhtari و همکاران ۱۲ هفته تمرین هوازی را موثر در بهبود تعادل و کاهش معنی‌دار افسردگی زنان سالمند ۶۲-۸۰ ساله گزارش نمود (۱۸). Osali و همکاران سه ماه تمرین هوازی با شدت متوسط را موثر در کاهش افسردگی و IL-6 زنان سالمند مبتلا به سندرم متابولیک گزارش کردند (۱).

کاهش افسردگی در این تحقیق با نتایج Donohue و همکاران همخوانی ندارد (۲۰). Donohue و همکاران نشان دادند که افراد جوانی که به صورت منظم به ورزش پرداخته‌اند، بیش از سایر جوانان غیرورزشکار دچار اختلالات تکانشی، روان نژندی و روان پریشی شده‌اند. باتوجه به سن آزمودنی‌ها و هدف از ورزش در این دوره سنی می‌توان گفت خود نگرش به ورزش در کاهش و افزایش افسردگی و اختلالات رفتاری موثر می‌باشد. در تحقیق حاضر ورزش با هدف درمان و کاهش افسردگی انجام شد که کاهش معنی‌دار فشار خون، درصد چربی بدن، وزن، سایز دور کمر، تری گلیسرید مشاهده گردید ولی در تحقیق Donohue و همکاران ورزش با هدف کسب نتیجه (قهرمانی) بود که این عامل موجب افزایش اختلالات رفتاری می‌گردد. اختلاف در سن آزمودنی‌ها، ترکیب بدن و هدف از ورزش از دلایل عدم همخوانی نتایج می‌باشد.

مکانیسم تاثیر ورزش و مصرف کورکومین بر کاهش افسردگی در زنان ۶۰-۶۵ ساله مبتلا به سندرم متابولیک را از طریق چندین مسیر می‌توان مورد بررسی قرار داد. مسیر اول تاثیر ورزش و مصرف مکمل کورکومین بر کاهش IL1β می‌باشد. در تحقیق

حاضر علت کاهش IL1β را به کاهش معنی‌دار فشار خون، تری گلیسرید، سایز دور کمر، افزایش معنی‌دار HDL در اثر هشت هفته تمرین و مصرف کورکومین می‌توان نسبت داد. همچنان که Zorilla و همکاران و Mossner و همکاران اشاره نمودند که افزایش عوامل التهابی در ارتباط با کاهش سرتونین می‌باشد (۱۲، ۱۳). می‌توان علت کاهش افسردگی در تحقیق حاضر را به کاهش IL1β نسبت داد کاهش IL1β را در افزایش سرتونین دخیل دانست (۱۴).

مسیر دوم تاثیر ورزش بر افزایش سطوح تریپتوفان می‌باشد. تریپتوفان پیش ساز سنتز سرتونین می‌باشد که در اثر انجام تمرین هوازی طولانی مدت افزایش می‌یابد. مکانیسم افزایش تریپتوفان بدین گونه می‌باشد که اتکای سوختی غالب در انجام تمرین هوازی با شدت متوسط طولانی مدت اسید چرب می‌باشد. اسید چرب و تریپتوفان در خون به وسیله آلبومین انتقال می‌یابند که جایگاه اتصال هر دو بر روی آلبومین یکسان می‌باشد؛ باتوجه به اینکه در حین تمرین میزان فراخوانی اسید چرب افزایش یافته و این افزایش منجر به کاهش جایگاه آلبومین برای اتصال تریپتوفان به آلبومین می‌گردد، لذا افزایش تریپتوفان آزاد خون منجر به ورود بیشتر تریپتوفان به مغز شده و حضور تریپتوفان در سیستم عصبی مرکزی منجر به سنتز بیشتر سرتونین و رفع افسردگی می‌گردد (۶-۸). همچنین کورکومین بازدارنده هر دوی منوآمین اکسیداز A و B می‌باشد. منوآمین اکسیداز A و B اکسیدکننده دوپامین، نوراپی‌نفرین و سرتونین می‌باشند که مصرف کورکومین از اکسید شدن آن‌ها و در نتیجه از کاهش سطح دوپامین، نوراپی‌نفرین و سرتونین می‌کاهد (۱۶، ۱۵، ۲).

افزایش بیان عوامل التهابی موجب فعالیت nuclear factor kappa B (NF-κB) می‌شود. NF-κB با اتصال خود به DNA موجب جلوگیری از بیان BDNF (brain-derived neurotrophic factor) می‌گردد. لازم بذکر است مصرف کورکومین موجب کاهش بیان IL1β و رونویسی NF-κB می‌شود که این عوامل موجب افزایش بیان BDNF می‌شود (۲، ۱۴). BDNF عامل نوروتروفیک می‌باشد که هم باعث نورژنز و هم موجب

نسبت داد و انجام تمرین هوازی را به عنوان یک راهبرد غیر تهاجمی در درمان افسردگی زنان ۵۰-۶۵ ساله مبتلا به سندرم متابولیک پیشنهاد داد. در پایان، انجام تحقیق با شدت و طول دوره‌ی تمرینی متفاوت بر جامعه مورد نظر پیشنهاد می‌گردد.

قدردانی

از تمام آزمودنی‌ها که در این تحقیق شرکت نمودند سپاسگزارم. همچنین از ریاست محترم بنیاد شهید که فضای اجرایی تحقیق را در اختیار قرار دادند کمال تشکر را دارم.

نورپلاستیستی می‌شود (۲۷-۲۹). باتوجه به اینکه از نظر زیست شناختی انتقال عصبی در افراد افسرده اختلال پیدا می‌کند (۵)، می‌توان گفت کاهش معنی‌دار دور کمر، فشار خون، تری‌گلیسرید و افزایش HDL در اثر دو ماه تمرین هوازی با شدت متوسط موجب کاهش معنی‌دار $IL1\beta$ گردیده و کاهش $IL1\beta$ موجب کاهش فعالیت و اتصال NF- κ B به DNA می‌شود. این فرایند منجر به افزایش بیان BDNF می‌شود و افزایش BDNF نیز بهبود انتقال عصبی و رفع افسردگی را در پی دارد (۲،۳۰).

نتیجه‌گیری

با توجه به کاهش $IL1\beta$ و بهبود سندرم متابولیک در اثر تمرین دو ماهه با شدت متوسط می‌توان علت کاهش افسردگی را به آنها

References

- Osali A, Mostafavi H, Moaseri F. The Effect of Twelve-Week Aerobic Exercise on IL-6 and depression in 50-65 Years Old Women with Syndrome Metabolic. *TUOMS* 2017.
- Kulkarni S K, Dhir Ashish, Akula Kiran Kumar. Potentials of Curcumin as an Antidepressant. *SWJ* 2009; **9**: 1233-1241. doi: 10.1100/tsw.2009.137
- Ballard C, Bannister C, Solis M, Oyeboode F, Wilcock G. The prevalence, associations and symptoms of depression amongst dementia sufferers. *J Affect Disord* 1996; **36**: 135-144. doi: 10.1016/0165-0327(95)00072-0
- Stepaniuk J, Ritchie L, Tuokko H A. Neuropsychiatric impairments as predictors of mild cognitive impairment, dementia, and Alzheimer's disease. *Am J Alzheimers Dis* 2008; **23**: 326-333. doi: 10.1177/1533317508317351
- Hematfar A, shahsavari A, Tip H. The Effect of Eight Weeks of Selected Aerobic Exercise on the Depression and Serum Serotonin Concentration in Depressed Female University Students. *Journal of Sport Biosciences* 2012; **4**(13): 51-62.
- Osali A, Kordi M, Azad A. The Effects of Carbohydrates and Branched Chain Amino Acid Supplements Consumption in Recovery Period on Secretion of Insulin and Preserving the Performance of Wrestlers. *Journal of Sport Biosciences* 2009; **1**(2): 129-272.
- Davis J M, Bailey S P, Woods J A, Galiano F J, Hamilton M T, Bartoli W P. Effects of carbohydrate feedings on plasma free tryptophan and branched-chain amino acids during prolonged cycling. *European Journal of applied and Occupational Physiology* 1992; **65**: 513-519. doi: 10.1007/bf00602357
- Blomstrand E. Amino acids and central fatigue. *Amino Acids J Physiol Endocrinol Metab* 2001; **20**(1): 25-34. doi: 10.1007/s007260170063
- Aggarwal B B, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007; **595**: 1-75. doi: 10.1007/978-0-387-46401-5_1
- Srinivasan M. Effect of curcumin on blood sugar as seen in a diabetic subject. *Indian J Med Sci* 1972; **26**: 269-270.
- Sreejayan R, Rao M N. Curcuminoids as potent inhibitors of lipid peroxidation. *J Pharm Pharmacol* 1994; **46**: 1013-1016. doi: 10.1111/j.2042-7158.1994.tb03258.x
- Zorilla E P, McKay J R, Roesenthal R, Houldin A, Tax A. The relationship of depression and stressors to immunological assays: A meta-analytic review. *Brain Behav Immun* 2001; **15**: 199-226. doi: 10.1006/brbi.2000.0597
- Mossner R M O, Koutsilieri E, Saoud M, Ehlis A C, Muller N. Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: Biological markers in depression. *World J Biol Psychiatry* 2007; **8**: 141-174. doi: 10.1080/15622970701263303
- Lim G P, Chu T, Yang F, Beech W, Frautschy S A, Cole G M. The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *Neurosci* 2001; **21**: 8370-8377. doi: 10.1523/jneurosci.21-21-08370.2001
- Kulkarni S K, Bhutani M K, Bishnoi M. Antidepressant activity of curcumin: involvement of serotonin and dopamine system. *Psychopharmacology* 2008; **201**: 435-442. doi: 10.1007/s00213-008-1300-y
- Xu Y, Ku B S, Yao H Y, Lin Y H, Ma X, Zhang Y H, et al. The effects of curcumin on depressive-like behaviors in mice. *Eur J Pharmacol* 2005; **518**: 40-46.

17. Legrand F, Mille C H. The effects of 60 minutes of supervised weekly walking (in a single vs.3-5 session format) on depressive symptoms among older women: Findings from a pilot randomized trial. *Mental Health and Physical Activity* 2009; **2**: 71-75. doi: 10.1016/j.mhpa.2009.09.002
18. Mokhtari M, Nezakatalhossaini M, Esfarjani F. The effect of 12-week pilates exercises on depression and balance associated with falling in the elderly. *Procedia - Social and Behavioral Sciences* 2013; **70**: 1714-1723.
19. Dey S. Physical exercise as a novel antidepressant agent: Possible role of serotonin receptor subtypes. *Physiology & Behavior* 1994; **55**(2): 323-329. doi: 10.1016/0031-9384(94)90141-4
20. Donohue B. Examination of Psychiatric Symptom In Student Athletes. *Journal of Gen Psycho* 2004; **131**(1): 29-36. doi: 10.3200/genp.131.1.29-35
21. Grundy S M, Cleeman J I, Daniels S R, Donato K A, Eckel R H, Franklin B A, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American heart association/national heart, lung, and blood institute scientific statement. *Circulation* 2005; **112**: 2735-2752. doi: 10.1161/circulationaha.105.169404
22. Xu Y, Ku B, Cui L, Li X, Barish P A, Foster T C, et al. Curcumin reverses impaired hippocampal neurogenesis and increases serotonin receptor 1A mRNA and brain-derived neurotrophic factor expression in chronically stressed rats. *Brain Res* 2007; **1162**: 9-18. doi: 10.1016/j.brainres.2007.05.071
23. Patanella A K, Zinno M, Quaranta D, Nociti V, Frisullo G, Gainotti G, et al. Correlations Between Peripheral Blood Mononuclear Cell Production of BDNF, TNF-alpha, IL-6, IL-10 and Cognitive Performances in Multiple Sclerosis Patients. *Journal of Neuroscience Research* 2010; **88**: 1106-1112.
24. Qi Z, He J, Zhang Y, Shao Y, Ding S. Exercise training attenuates oxidative stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Free Radic Biol Med* 2011; **50**(7): 794-800. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.022
25. Beck A T, Steer R A, Ball R, Ranieri W. Comparison of Beck Depression Inventories -IA and -II in psychiatric outpatients. *Journal of Personality Assessment* 1996; **67**(3): 588-597. doi: 10.1207/s15327752jpa6703_13
26. HekmatiPour N, Hojjati H, Sharif Nia H, Akhondzade G, Nikjou A, MirAbolhasani M. Impact of Routine Exercises on Elderly's Depression Rate. *Iran J Health Educ Health Promot* 2013; **1**(3): 23-32.
27. Andrew H. Miller, Vladimir Maletic, Charles L. Raison. Inflammation and Its Discontents: The Role of Cytokines in the Pathophysiology of Major Depression. *Biol Psychiatry*. 2009; **65**(9):732-41. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.11.029
28. Schottelius A J, Mayo M W, Sartor R B, Baldwin A S, Jr. Interleukin-10 signaling blocks inhibitor of kappaB kinase activity and nuclear factor kappaB DNA binding. *J Biol Chem* 1999; **274**(45): 31868-31874. doi: 10.1074/jbc.274.45.31868
29. Glaser R, Robles T F, Sheridan J, Malarkey W B, Kiecolt-Glaser J K. Mild depressive symptoms are associated with amplified and prolonged inflammatory responses after influenza virus vaccination in older adults. *Arch Gen Psychiatry* 2003; **60**: 1009-1014.
30. Xu Y X, Pindolia K R, Janakiraman N, Chapman R A, Gautam S C. Curcumin inhibits IL-1 alpha and TNF-alpha induction of AP-1 and NK-kB DNA-binding activity in bone marrow stromal cells. *Hematopathol Mol Hematol* 1998; **11**: 49-62.

Original Article

Design and construction of expression vector containing the chimeric antigen of *B. melitensis* Omp25-Omp31 to production of a vaccine against brucellosis

Ali Akbar Khabiri¹ , Mohammad Soleimani^{1*}, Mohammad Hadi Sekhavati², Mojtaba Tahmoorespur²

¹Department of Microbiology, School of Medicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

²Department of Animal Science, School of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

*Corresponding author; E-mail: soleimanidor@yahoo.com

Received: 15 October 2016 Accepted: 27 November 2016 First Published online: 13 December 2018
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):31-37

Abstract

Background: Brucella is gram-negative intracellular bacterial pathogens of both humans and animals. Among the six recognized Brucella species, Brucella melitensis is the main etiologic agent involved in ovine and caprine brucellosis and is also the most pathogenic species of humans.

Methods: We amplified by specific primers, two of the best outer membrane antigens Omp31 and Omp25 for this disease, and the construction of recombinant chimeric Omp31-Omp25 combination of them, with using the (EAAAK)₂ linker.

Results: The sequence analysis results showed that strain Rev1 of melitensis for Omp25 antigen has most homology with the strains melitensis M16 and also Omp31 antigen showed the most homology with of B. Ovis melitensis species.

Conclusion: Then recombinant chimera Omp31-Omp25 was cloned into Pet32a vector and transform into BL21 (DE3) host cell for expression.

Keywords: Brucella melitensis, Vector, OMPs, Linker, Chimera

How to cite this article: Khabiri A A, Soleimani M, Sekhavati M H, Tahmoorespur M. [Design and construction of expression vector containing the chimeric antigen of *B. melitensis* Omp25-Omp31 to production of a vaccine against brucellosis]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):31-37. Persian.

مقاله پژوهشی

طراحی و ساخت وکتور بیانی حاوی آنتی ژن کایمیریک Omp25-Omp31 بروسلا ملیتینسیس با هدف تولید واکسن نو ترکیب علیه بیماری بروسلوز

علی اکبر خیبری^۱، محمد سلیمانی^{۲*}، محمد هادی سخاوتی^۲، مجتبی طهمورث پور^۲

^۱گروه میکروبیشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران

^۲گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

*نویسنده مسئول: ایمیل soleimanidor@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۷/۲۴ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۷ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ آذر و دی؛ ۴۰(۵): ۳۷-۳۱

چکیده

زمینه: بروسلوز یا تب مالت (تب مدیترانه ای) به واسطه رشد و تکثیر باکتری کوکوباسیل گرم منفی بروسلا در سلول های پستانداران رخ می دهد. این بیماری به عنوان یک بیماری مشترک بین انسان و دام شناخته شده است. تا به حال ۶ گونه بروسلا شناسایی شده اند بطوریکه مهمترین آنها که در انسان ایجاد بیماری می کند، بروسلا ملیتینسیس می باشد. اولین قدم در رسیدن به واکسن نو ترکیب انتخاب بهترین آنتی ژن هایی است که بیشترین نقش را در ایجاد بالاترین سطح ایمنی داشته باشد.

روش کار: این پژوهش با هدف خالص سازی دو عدد از بهترین آنتی ژن های محرک بیماری بروسلوز و ساخت کایمر ترکیبی متشکل از این دو آنتی ژن، بواسطه جداسازی و کلونینگ آنتی ژن های Omp25 و Omp31 از باکتری کوکوباسیل بروسلا و هم چنین انجام فعالیت های بیوانفورماتیک و تهیه وکتور بیانی کایمر شده از این آنتی ژن ها و کایمر ساخته شده آنها، توسط روش های مهندسی ژنتیک با هدف تولید واکسن نو ترکیب به منظور پیشگیری از این بیماری خواهد بود.

یافته ها: توالی های آنتی ژنی مورد نظر با استفاده از آغازگرهای اختصاصی تکثیر و توالی یابی شدند. عمل اتصال و تولید کایمر دو آنتی ژن با استفاده از لینکر^۲ (EAAAK) بدون وجود جهش و تغییر در ساختار پروتئین آن انجام شد. قطعه کایمر ساخته شده مورد نظر به داخل میزبان بیانی BL21 (DE3) بعد از عمل کلون، در وکتور بیانی Pet32 a انتقال داده شد.

نتیجه گیری: امکان اتصال دو آنتی ژن با لینکر مورد نظر بدون جهش وجود داشت. و علاوه بر آن امکان انتقال توالی کایمری ساخته شده به درون وکتور بیانی و میزبان بیانی امکان پذیر بود. علاوه بر این نتایج بیوانفورماتیکی درخت فیلوزنتیکی نشان داد که سویه ملیتینسیس Rev1 بیشترین همولوژی را برای آنتی ژن Omp25 با سویه ملیتینسیس M16 و همچنین بیشترین همولوژی را در بررسی ها برای آنتی ژن Omp31 بعد از ملیتینسیس با گونه بروسلا Ovis دارا می باشد.

کلید واژه ها: بروسلوز، وکتور، بروسلا ملیتینسیس، OMPs، لینکر

نحوه استناد به این مقاله: خیبری ع ا، سلیمانی م، سخاوتی م، طهمورث پور م. طراحی و ساخت وکتور بیانی حاوی آنتی ژن کایمیریک Omp25-Omp31 بروسلا ملیتینسیس با هدف تولید واکسن نو ترکیب بر علیه بیماری بروسلوز. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۳۷-۳۱

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپی (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

بروسلا باکتری داخل سلولی گرم منفی، است که می تواند بسیاری از گونه های حیوانات و انسان را آلوده کند (۱). علائم این بیماری، سقط جنین، کاهش باروری در حیوانات یا عفونت های مزمن با علائمی مانند تب، آرتریت و استئومیلیت در انسان می باشد (۲). بروسلا به شش گونه مختلف شامل بروسلا ملتینسیس، بروسلا آورتوس، بروسلا سوئیس، بروسلا کنیس، بروسلا ماریس و بروسلا اویس دسته بندی می شود که بیشتر پستانداران خشکی را تحت تاثیر قرار می دهد (۳). اگرچه، در سال های اخیر تعداد فزاینده ای از گونه های بروسلا از پستانداران دریایی جدا شده است، که دو گونه جدید پیشنهادی، شامل بروسلا ستاسا و بروسلا پینی پدیا می باشند (۴). این ها طبقه بندی هایی است که عمدتاً در تفاوت با بیماری زایی و گزینش میزبان ها صورت می گیرد (۵). عفونت انسانی با بروسلا ملتینسیس در بسیاری از کشورهای در حال توسعه به صورت همه گیر در آمده است (۶). اولین گونه بیماری زا در حیات وحش گونه بروسلا ملتینسیس می باشد که علاوه بر عامل بیماری در بز و گوسفند یکی از عوامل بیماری زایی اصلی در انسان نیز می باشد (۷). در میان سویه های مختلف ملتینسیس، Rev1 برای واکسن های موجود علیه بیماری بروسلاز در گوسفند و بز استفاده می شود (۸). و به دلیل افزایش مقاومت در استفاده از استرپتومایسین برای درمان علیه بیماری تب مالت برای انسان، مقامات بهداشتی استفاده از این طریق درمان ها را علیه بیماری در انسان ممنوع کرده اند (۹). آنتی ژن های موجود در غشاهای خارجی باکتری ها (OMPs) نقش اساسی در تحریک سیستم ایمنی ایفا می کنند. Omp_s برای اولین بار در اوایل دهه ۱۹۸۰ تشخیص داده شدند (۱۰). و بطور گسترده به عنوان یک ویژگی ایمونژنیک و حفاظتی شناخته شده اند (۱۱). آنالیزهای PCR_RFLP از Omp25 نشان دادند که ژن Omp25 در گونه های مختلف بروسلا بسیار حفاظت شده می باشد (۱۲). سطح بالای حفاظت شده Omp25 بوسیله مشخص کردن توالی های مختلف از Omp25 در ۶ گونه بروسلا شناخته شده مورد تایید قرار گرفت (۱۳). همچنین مشخص کردند که ژن Omp31 علیه بیماری بروسلاز بسیار کاربردی می باشد (۱۴). در یک مطالعه، واکسنی بوسیله ژن Omp31 تولید شد و نقش آن را در کنترل تب مالت مشخص کردند که این ژن با تحریک سلول های CD8⁺ T می تواند باعث جلوگیری از بیماری شود (۱۵). بر اساس مطالعات گذشته در سال های اخیر استفاده از لینکرهای مختلفی برای اتصال در پپتید به منظور افزایش عملکرد نسبت به حالت انفرادی آنها، و افزایش سطح بیان آنها مورد تایید قرار گرفته است. در بسیاری از این مطالعه در بین لینکرهای مطرح شده در بررسی های مختلف، از لینکر آلفا هیلکس (EAAAK)_n (n≤2) با دو تکرار استفاده شد. و نتایج آن بر اساس مطالعات انجام شده با دادهای تجربی در

تعداد تکرار، برای تکرار دو به بالا بهترین میزان بیان، در تولید پروتئین گزارش شده است (۱۶-۱۷). یکی دیگر از موارد استفاده از این نوع لینکر دلیل ساختار آن می باشد، این لینکر در گروه لینکرهای سخت طبقه بندی می شود و دلیل استفاده از لینکر سخت در این مطالعه، این می باشد که دو قطعه آنتی ژنی مورد نظر کمترین اثر را بر روی همدیگر و عملکرد فیزیولوژیکی یکدیگر داشته باشند، و به عبارت دیگر کمترین ایتراکشن را نسبت به عملکرد یکدیگر داشته باشند.

روش کار

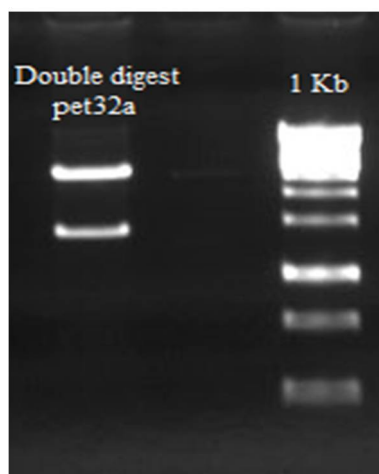
در این مطالعه باکتری بروسلا ملتینسیس، سویه Rev1 از مجموعه کشت شده در موسسه سرم سازی رازی مشهد تهیه و کشت داده شد. DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج (Bioneer, South Korea)، استخراج شد. کیفیت DNA استخراج شده بر روی ژل الکتروفورز ۰.۸٪ آگارز مورد بررسی قرار گرفت و مقدار خلوص آن توسط دستگاه نانودراپ استکتومتر (ND-2000 Thermo-USA) اندازه گیری شد. از وکتور کلونینگ بدست آمده استفاده شد. و همچنین از سویه DH5α باکتری اشرشای کولای به عنوان میزبان برای نگهداری قطعات آنتی ژن بدست آمده و در مرحله بعدی کار برای کایمر ساخته شده مورد استفاده قرار گرفت. و در نهایت کایمر ساخته شده به درون وکتور بیانی Pet32 a جهت بیان ساب کلون گردیدند و به منظور اندازه گیری مقدار بیان و سنجش ایمنی زایی برای مراحل بعدی کار با موفقیت به درون میزبان بیانی BL21 (DE3) منتقل شدند. DNA ژنومی باکتری بروسلا ملتینسیس سویه Rev1 به عنوان الگو در فرآیند PCR برای بدست آوردن کل توالی خوانش شده (ORF) از ژن Omp25 (640bp)، Omp31 (720bp) با استفاده از DNA پلی مرز Taq (EX Taq, Takara, Japan) مورد استفاده قرار گرفت. پرایمرهای اختصاصی با مکان های برشی مناسب با استفاده از نرم افزار Primer premier5 بر طبق توالی نوکلئوتید موجود در بانک اطلاعاتی NCBI طراحی شده و آنزیم های برشی مناسب در دو انتهای پرایمرها طراحی شدند. برای تکثیر توالی آنتی ژن Omp25 به طول ۶۴۰ جفت باز از یک جفت پرایمر اختصاصی طراحی شده با توالی 5'CCATGGATGCGCACTCTTAAGTCTC و 3' NcoI به همراه توالی آنزیم برشی EcoRI 3'GAATTCGAAGTCTGTAGCCGATGCC استفاده شد و همچنین برای تکثیر توالی آنتی ژن Omp31 به طول ۷۲۰ جفت باز از یک جفت پرایمر اختصاصی طراحی شده با توالی 5'GAATTCATGAAAT و 3'CCGTAATTTTGGC.3 به همراه توالی آنزیم برشی EcoRI و

3 R:5'GGATCCTTAGAAGCTTGTAGTTCAGACCG به همراه آنزیم برشی BamHI استفاده شد. انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با اجزای واکنش PCR و غلظت مواد تشکیل دهنده، انجام شد که عبارت بودند از ۱/۵ میکرولیتر از DNA ژنومی (۱۰۰، ۵۰ نانوگرم)، یک واحد آنزیم EX Taq پلیمرز (۰/۱۲۵ U/μl) (Takara, Japan)، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs (۱۰ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر ۵۰ MgCl₂ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر مخلوط پرایمر ۵ پیکومولار، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X و ۱۸ میکرولیتر آب دوبر تقطیر شده؛ با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Biometra (آلمان - T-personal) در ۳۵ سیکل و با برنامه حرارتی بصورت، واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۷ درجه برای ۳۰ ثانیه، تکثیر در دمای ۷۲ درجه برای ۴۵ ثانیه، همچنین، یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۵ دقیقه و یک مرحله تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه برای ۱۰ دقیقه نیز انجام شد. محصولات PCR توسط ژل آگارز ۱/۸٪ در دستگاه الکتروفورز مورد ارزیابی قرار گرفت و جهت توالی‌یابی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ارسال گردیدند (MacroGen, south Korea). توالی‌های حاصله با دیگر توالی‌های موجود در بانک ژنی NCBI با استفاده از ابزار BLAST مورد بررسی و همولوژی قرار گرفت و از نرم افزار CLC Main workbench 5.5 برای بررسی توالی‌ها و نرم افزار MEGA 5 برای رسم درخت فیلوژنتیکی استفاده شد. محصولات PCR توسط کیت (Bioneer, German) Ron's Agarose Gel mini perp kit، بر طبق دستورالعمل شرکت مربوطه خالص سازی شد. محصولات PCR خالص شده به داخل وکتور کلونینگ PTZ57R/T توسط روش T/A کلونینگ بر طبق دستورالعمل شرکت (Thermo, USA) صورت گرفت. برای سلولهای مستعد میزبان از اشریشیاکلاهی DH5α استفاده شد و ترنسفورمیشن در ادامه آن با روش Sambrook and Russell صورت گرفت. وکتورهای PTZ57R/T حاوی ژن به داخل سلول های میزبان اشریشیاکلاهی DH5α انتقال داده شد. کلنی های باکتری رشد کرده بر روی محیط، که حاوی پلاسمید بود برای تاکید بر وجود قطعه در پلاسمید انتقال داده شده، با روش کلنی PCR مورد انتخاب قرار گرفتند. کلونی‌های حاوی پلاسمید دارای قطعه کشت داده شدند، و پلاسمیدهای آن‌ها توسط کیت Ron's plasmid mini kit (Bioneer, German) استخراج شدند و با عمل هضم آنزیمی که بر روی آنها صورت گرفت مورد تایید قرار گرفتند. کایمر دو ژن با استفاده از متد (۱۷) Splicing-by-Overlap Extension با مقداری تغییر در دستورالعمل اولیه آن انجام گرفت. در مرحله اول، برای آماده کردن ژن Omp25 در PCR1 از وکتور کلونینگ PTZ57R/T که در مراحل قبل قطعه Omp25 را در آن قرار داده ایم به عنوان الگو استفاده شد، و از پرایمر رفت Omp25F (۵-`

--3'CCATGGATGCGCACTCTTAAGTCTC` دارای توالی برشی آنزیم NcoI در ناحیه ۵، و پرایمر برگشت Omp25R (۵-` GAAGCAGCGGCTAAAGAAGCGGCGGCAAAAATG-3' بدون داشتن ناحیه برشی و بدون (AAATCCGTAATTTTG-3' داشتن کدون پایان استفاده شد (PCR1). همچنین برای آماده کردن ژن Omp31 در PCR2 نیز از وکتور کلونینگ PTZ57R/T که در مراحل قبل قطعه Omp31 را در آن قرار داده‌ایم به عنوان الگو مورد استفاده قرار گرفت و از پرایمر رفت Omp31F (۵-` TTTAGCCGCTGCTTCTTTTGCCGCAGCTTCGAAGT-3' بدون ناحیه برشی در ناحیه ۵، و پرایمر برگشت Omp31R (۵-`)-3' GGATCCTTAGAAGCTTGTAGTTCAGACCG` که دارای ناحیه برشی آنزیم BamHI در انتهای ۳ می‌باشد استفاده شد (PCR2). نواحی برشی در توالی‌ها به صورت پرنک تر نشان داده شده است. در دومین مرحله محصولات PCR بدست آمده پس از ارزیابی توسط ژل آگارز، خالص‌سازی از محلول روی هر دو نمونه انجام گرفت و سپس هر دو محصول خالص شده حاصل از PCR1 و PCR2 با یکدیگر به همراه یک واحد آنزیم EX Taq پلیمرز (۰/۱۲۵ U/μl) مخلوط شدند. مخلوط حاصل در PCR3 با بیست تکرار، هر کدام شامل واسرشت سازی ۹۴ درجه سانتیگراد یک سیکل ۴۵ ثانیه، دمای اتصال ۶۰ درجه سانتیگراد یک سیکل ۸۰ ثانیه، مرحله گسترش ۷۲ درجه سانتیگراد ۲ دقیقه قرار گرفتند (PCR3). در آخرین مرحله، محصول PCR3 خالص‌سازی شد و با استفاده از پرایمرهای Omp25F و Omp31R در دمای اتصال ۶۴ درجه سانتیگراد یک سیکل ۲۰ دقیقه گذاشته شد (PCR4). محصول PCR4 با استفاده از آنزیم‌های برشی NcoI و BamHI تحت واکنش هضم آنزیمی قرار گرفت و به داخل وکتور بیانی Pet32 a جهت بیان، ساب کلون گردید و به منظور اندازه‌گیری مقدار بیان و سنجش ایمونوزایی برای مراحل بعدی کار به درون میزبان بیانی BL21 (DE3) منتقل شدند. با استفاده از ابزار BLAST و روش blastn در پایگاه NCBI میزان همپوشانی و همولوژی توالی‌های بدست آمده سنجیده شد. کیفیت توالی‌های ارسالی از شرکت به منظور بررسی رابطه فیلوژنتیکی گونه مورد مطالعه، بوسیله نرم افزار Mega v.5.2 مورد محاسبه قرار گرفت. همچنین از روش neighbor-joining این نرم‌افزار برای ترسیم نمودار درختی استفاده گردید. از الگوریتم و نرم افزار PHRED به منظور اصلاح نوکلئوتیدی توالی‌ها استفاده شد. برای بررسی تفاوت‌های تک نوکلئوتیدی از نرم افزار CLC Main Workbench 5 نیز کمک گرفته شد. بررسی کیفیت خوانش توالی‌های ارسال شده با استفاده از نرم افزارهای Chromas Lite و BioEdit مورد بررسی قرار گرفت.

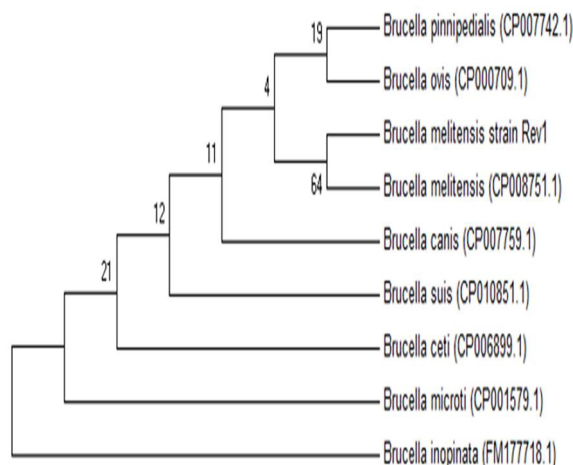
یافته‌ها

استخراج DNA از نمونه مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت با موفقیت انجام شد. قطعات اختصاصی برای ناحیه *Omp25* و *Omp31* با طول‌هایی به ترتیب ۶۴۰ و ۷۲۰ نوکلئوتید تکثیر شدند. هر یک از قطعات آنتی ژنی بدست آمده بصورت جداگانه در داخل وکتور کلونینگ PTZ57R/T با روش شرکت سازنده کیت کلون شدند و پس از عمل ترنسفورم در داخل سلول‌های مستعد، کلونی‌های اشیرشیاکالای *DH5α* میزبان بر روی محیط کشت رشد کرده برای تایید وجود یا عدم وجود قطعات در پلاسمید در روش کلونینگ PCR مورد انتخاب قرار گرفتند (شکل A ۱). از پلاسمیدهای حاوی ژن‌های *Omp25* و *Omp31* جهت الگو برای ساخت کایمر استفاده شد. و بعد از آن توالی کایمر ساخته شده در داخل وکتور کلونینگ PTZ57R/T کلون شد و پس از عمل ترنسفورم در داخل سلول‌های مستعد، کلونی‌های اشیرشیاکالای *DH5α* میزبان بر روی محیط رشد کردند. برای تایید وجود یا عدم وجود قطعه کایمر ساخته شده در پلاسمید روش کلونینگ PCR با پرایمرهای M13 مورد انتخاب قرار گرفتند این پرایمرها حدود ۲۰۰ نوکلئوتید به توالی اضافه می‌کنند (شکل B ۱).



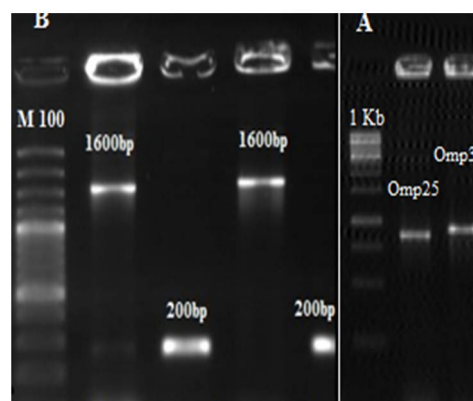
شکل شماره ۲: هضم کایمر ساخته شده داخل وکتور Pet32 a حاوی کایمر ژن‌های *Omp25-Omp31* با طول تقریبی ۱۴۰۰ bp.

توالی آنتی ژنهای *Omp25,31* با توالی این دو آنتی ژن در گونه‌های دیگر مورد مقایسه قرار گرفتند. (شکل ۳، ۴).



0.002

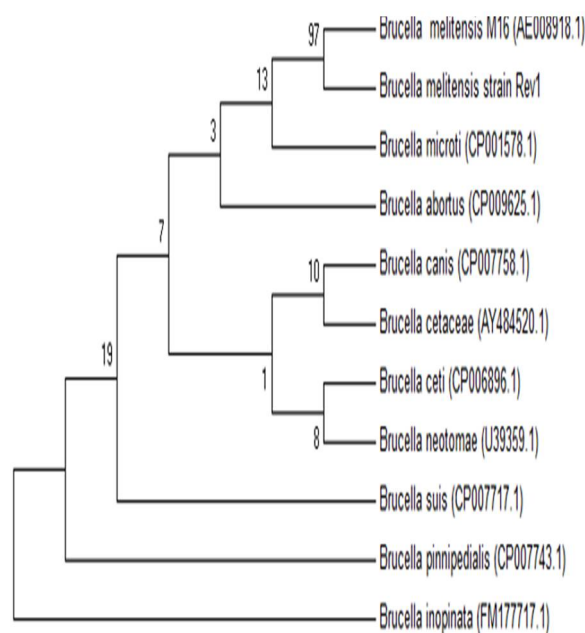
شکل شماره ۳: نمودار فیلوژنتیک (نمودار درختی N-J) توالی *Omp31* بروسلا ملیتینسیس Rev1 و سایر گونه‌های بروسلا.



شکل شماره ۱: A الکتروفورز محصولات کلونی PCR آنتی ژن‌های *Omp25(840 p)* و *Omp31(920 bp)* بر روی ژل آگارز ۸٪. B الکتروفورز کایمر ساخته شده داخل وکتور کلونینگ PTZ57R/T حاوی دو آنتی ژن *Omp25-Omp31* با طول تقریبی ۱۶۰۰ bp، توالی ۲۰۰ نوکلئوتیدی نشان‌دهنده کلونی‌های حاوی وکتور و بدون وجود قطعه می‌باشند.

در مرحله بعدی تحقیق وکتورهای کلونینگ PTZ57R/T دارای آنتی ژن‌های *Omp25* و *Omp31* و همچنین کایمر ساخته شده حاوی آنتی ژن ترکیبی *Omp25-Omp31* جهت توالی یابی با استفاده از پرایمرهای رفت و برگشت M13 به شرکت MACRO ارسال شد. کایمر نهایی ساخته شده با استفاده از آنزیم‌های *BamHI* و *NcoI* تحت واکنش هضم آنزیمی قرار گرفت و به داخل وکتور بیانی Pet32 a جهت بیان، ساب کلون گردید و به منظور اندازه‌گیری مقدار بیان و سنجش ایمنو زایی برای مراحل

لینکر مورد نظر بودند به یک دیگر متصل شدند و قطعه کایمر جدید با طول تقریبی ۱۴۰۰bp حاصل شد. صحت فرایند اتصال و تکثیر کایمر ساخته شده بر روی ژل آگارز نشان داد که طول کایمر دقیقاً برابر مجموع هر دو ژن به همراه لینکر می‌باشد. همچنین برای تایید وجود یا عدم وجود از انجام شدن عمل کلون و ترنسفورم قطعه کایمر مورد نظر از روش کلونینگ PCR با پرایمرهای M13 مورد استفاده قرار گرفت. همانطور که در شکل ۱B نیز پیداست وجود کلون‌هایی حاوی قطعه مورد نظر مشاهده شد که برای تایید نهایی در تکثیر دقیق کایمر Omp25-Omp31 و کتورهای کلونینگ PTZ57R/T دارای آنتی ژن های Omp25 و Omp31 و همچنین وکتورهای کلونینگ PTZ57R/T کایمر ساخته شده حاوی آنتی ژن ترکیبی Omp25-Omp31 جهت توالی یابی با استفاده از پرایمرهای رفت و برگشت M13 به شرکت MACRO GEN ارسال شد. نتایج بدست آمده از خوانش توالی‌ها توسط نرم افزارهای Chromas Lite و BioEdit مورد ارزیابی و کیفیت سنجی قرار گرفتند. نتایج ارزیابی نشان دهنده کیفیت بسیار بالای توالی‌یابی بوده و انجام آنالیزهای بیوانفورماتیک امکان‌پذیر بودند. مقایسه نتایج بدست آمده از توالی‌یابی این دو آنتی ژن بصورت جدا از یکدیگر و کایمر ساخته شده از ترکیب دو آنتی ژن نشان داده که بعد از عمل اتصال این دو آنتی ژن به یکدیگر علاوه بر اینکه هیچ جهشی در توالی بوجود نیامده است، بلکه چهارچوب خوانش آن در سطح پروتئین نیز کاملاً صحیح می‌باشد. و همچنین عمل حذف کدون پایان در انتهای آنتی ژن Omp25 بصورت صحیحی انجام شده است. در بررسی درخت فیلوژنتیکی حاصل از دو آنتی ژن Omp25 و Omp31 نتایج نشان داد که تفاوت‌های تک نوکلئوتیدی موجود در بین گونه‌های مختلف به مقدار بسیار کمی وجود دارد، و این تفاوت‌ها نیز منجر به تفاوت اسید آمینه‌ای در سطح پروتئین این دو آنتی ژن نشده است. برای هر دو آنتی ژن مورد مطالعه تفاوت‌های تک نوکلئوتیدی موجود در توالی در بین گونه‌های مختلف در قسمت انتهایی توالی‌ها مشاهده شدند، و بر طبق مطالعات انجام شده در بررسی‌های اپیتوپی انجام شده بر روی آنتی ژن‌های مختلف گزارش شده است که تفاوت در سطح اسید آمینه‌ای اثر بسیار زیادی بر عملکرد آنتی ژن‌ها دارد، می‌شود استنباط کرد که با وجود تغییر در سطح نوکلئوتیدی به دلیل اهمیت عملکرد در طی سالیان گذشته تغییری در سطح اسید آمینه‌ای ایجاد نشده است و بصورت حفاظت شده باقی مانده است. رسم درخت فیلوژنتیکی نشان داد که سویه ملیتینسیس Rev1 بیشترین همولوژی را برای آنتی ژن Omp25 به ترتیب با سویه ملیتینسیس M16 و گونه‌های Microti، Abortus و همچنین بیشترین همولوژی در بررسی‌ها برای آنتی ژن Omp31 بعد از گونه ملیتینسیس با گونه Ovis مشاهده شد.



شکل شماره ۴: نمودار فیلوژنتیک (نمودار درختی N-J) توالی Omp25 بروسلا ملیتینسیس Rev1 و سایر گونه‌های بروسلا

بحث

نتایج طیف‌سنجی و ژل آگارز بدست آمده از استخراج نشان داد که DNA استخراج شده از نظر کیفیت و کمیت از شرایط مناسبی برای واکنش‌های PCR برخوردار است. الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر روی ژل آگارز ۸٪ درصد نشان داد که پرایمرها به خوبی فعالیت نموده است. همچنین، وجود یک تک باند اختصاصی برای ژن‌های Omp25 و Omp31 بر روی ژل آگارز نشان‌دهنده این بود که توالی مشابهی برای جفت شدن آغازگرهای اختصاصی طراحی شده مورد استفاده در محل‌های دیگر ژنوم وجود نداشته است. برای تایید وجود یا عدم وجود قطعات در پلاسמיד روش کلونینگ PCR مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام PCR از پرایمرهای M13 که دارای جایگاه مکمل در وکتور بودند استفاده شد که در استفاده از این پرایمر حدود ۲۰۰ نوکلئوتید به هر توالی اضافه شد که همانطور که در شکل A ۱ مشاهده می‌شود کلونی‌های انتخابی دارای قطعات مورد نظر می‌باشد که گواهی بر صحت انجام فرایند های کلونینگ و ترنسفورم این دو قطعه می‌باشد. پس از بررسی اولیه صحت در فرایند کلون و ترنسفورم توالی‌های ژن‌های Omp25 و Omp31 از پلاسמיד‌های حاوی این قطعات ژنی برای الگوی ساخت کایمر Omp25-Omp31 استفاده شد. در این مرحله با روش Splicing-by-Overlap Extension دو قطعه آنتی ژنی Omp25,31 با استفاده از پرایمرهای طراحی شده که بخشی از توالی نوکلئوتیدی آنها

نتیجه گیری

بر اساس بررسی منابع صورت گرفته دو آنتی ژن از بهترین آنتی ژنهای که بیشترین مطالعات انجام شده در سالهای اخیر در ارتباط با بیماری بروسلوز به خود اختصاص می دهند انتخاب گردید. مراحل تکثیر این دو آنتی ژن با موفقیت صورت گرفت. همچنین بر اساس مطالعات گذشته صورت گرفته نیز بهترین لینکر قابل استفاده برای توالی های آنتی ژنی انتخاب شد. عمل اتصال دو آنتی ژن به یکدیگر و طراحی های لازم از قبیل حذف کدون پایان

برای آنتی ژن اول (*Omp25*) و طراحی نواحی برشی با موفقیت انجام شدند. توالی کایمر ساخته شده با موفقیت در وکتور بیانی ذکر شده وارد و بعد از آن عمل انتقال آن به ناقل بیانی صورت گرفت. توالی کایمریک ساخته شده می تواند در مطالعات آینده به منظور تولید واکسن نو ترکیب علیه بیماری بروسلوز و همچنین در بررسی های عملکردی کایمر این دو آنتی ژن از نظر ایمنی زایی در مقایسه با واکسن های موجود در بازار و واکسن این آنتی ژن ها بصورت منفرد و نه بصورت کایمر مورد استفاده قرار بگیرد.

References

- Xavier M N, Paixão T A, den Hartigh A B, Tsolis R M, Santos R L. Pathogenesis of *Brucella* spp. *The Open Veterinary Science Journal* 2010; **4**: 109-118. doi: 10.2174/1874318801004010109
- Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos E. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis* 2006; **6**(2): 91-99. doi: 10.1016/S1473-3099(06)70382-6
- Osterman B, Moriyon I. International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2006; **56**: 1173-1175. doi: 10.1099/ijs.0.64349-0
- Zygmunt M, Maquart M, Bernardet N, Doublet B, and Cloeckaert A. Novel IS711-Specific Chromosomal Locations Useful for Identification and Classification of Marine Mammal *Brucella* Strains. *Journal of clinical microbiology* 2010; **4**: 3765-3769. doi: 10.1128/jcm.01069-10
- Foster G, Osterman BS, Godfroid J. *Brucella ceti* sp. Nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. Nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int J Syst Evol Microbiol* 2007; **57**: 2688-2693. doi: 10.1099/ijs.0.65269-0
- Jinkyung Ko, Gary A. Splitter. Molecular Host-Pathogen Interaction in Brucellosis. *Clinical microbiology reviews* 2003; **4**: 65-78. doi: 10.1128/cmr.16.1.65-78.2003
- Cloeckaert A, Vicaino N, Paquet J, Raul A., Elzer P. Major outer membrane proteins of *Brucella* spp. *Veterinary Microbiology* 2002; **90**: 229-247. doi: 10.1016/S0378-1135(02)00211-0
- Cloeckaert A, Grayon M, Grepinet O. Identification of *Brucella melitensis* vaccine strain Rev.1 by PCR-RFLP based on a mutation in the *rpsL* gene. *Vaccine* 2000; **20**: 2546-2550. doi: 10.1016/S0264-410X(02)00159-7
- Ghasemi A, Salari M, Zarnani A, Pourmand M, Ahmadi H, et al. Immune reactivity of *Brucella melitensis*-vaccinated rabbit serum with recombinant *Omp31* and *DnaK* proteins. *Iranian Journal of Microbiology* 2013; **3**: 19-23. doi: 10.5812/ijm.6875
- Dubray G, Christiane C. Evidence of three major polysaccharide species and two major polysaccharide species in the *Brucella* outer membrane. *Annales de Recherches Vet erinaires* 1983; **14**: 311-318.
- Cloeckaert A, Verger J M, Grayon M, Vizcaino N. Molecular and immunological characterization of the major outer membrane proteins of *Brucella*. *FEMS Microbiol Lett* 1996; **145**(1): 1-8. doi: 10.1111/j.1574-6968.1996.tb08547.x
- Vizcaino N, Verger J, Maggy, Grayon M. DNA polymorphism at the *omp-37* locus of *Brucella* spp. evidence for a large deletion in *Brucella abortus*, and other species-specific markers. *Microbiology* 1997; **143**: 291-292. doi: 10.1099/00221287-143-9-2913
- Moreno E, Cloeckaert A. *Brucella* evolution and taxonomy. *Veterinary Microbiology* 2002; **16**: 209-227. doi: 10.1016/S0378-1135(02)00210-9
- Guilloteau S. Reconfiguring the ALMA Array. *ALMA Memo* 1999; **274**: 1-5.
- Maria C, Alejandra G, Diaz f, Vanesa Z, Guillermo H, Fernando A. Goldbaum M. The vaccine candidate BLSOmp31 protects mice against *Brucella canis* infection. *Vaccine* 2013; **6**: 6129-6135. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.07.041
- Ping Lu, Ming G. Bifunctional enhancement of a β -glucanase-xylanase fusion enzyme by optimization of peptide linkers. *Appl Microbial Biotechnology* 2008; **79**: 579-587. doi: 10.1007/s00253-008-1468-4
- Hoa S N, Hunt a H D, Horton B R M, Pullen J K, Peasea L R. Site-directed mutagenesis by overlap extension using the polymerase chain reaction. *Gene* 1999; **77**: 51-59. doi: 10.1016/0378-1119(89)90358-2

Original Article

The acute and chronic effects of metformin on memory retrieval and hippocampal CA1 area intact neurons in streptozotocin-induced Alzheimeric male rats

Niloufar Darbandi ^{*}, Samira Moghadasi , Hamid Reza Momeni 

Department of Biology, School of Science, Arak University, Arak, Iran.

*Corresponding author; E-mail: N-Darbandi@araku.ac.ir

Received: 6 December 2016 Accepted: 15 January 2017 First Published online: 13 December 2018
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):38-47

Abstract

Background: In this study, both acute and chronic therapeutic effects of metformin on memory retrieval and the number of intact neurons of hippocampal CA1 area in streptozotocin-induced Alzheimeric male rats were investigated.

Methods: 48 Male Wistar rats weighing 220-250 g were divided into six groups: control group (saline-saline), streptozotocin group (streptozotocine-saline), treated groups with streptozotocin plus metformin for once, one week, three weeks, and eleven weeks. ICV administration of STZ (3mg/kg) was down in the first and the third day of surgery and i.p injection of metformin (200mg/kg) or saline (ml/kg) daily starting one day before surgery to the end of care period. After the memory test, the animals were killed and their brains were fixed and density of intact neurons in the CA1 area of the hippocampus was investigated. Statistical analysis was performed with software SPSS, ANOVA and software Prisme.

Results: The ICV injections of STZ significantly reduced memory retention and the number of intact neurons compared to the control group ($p<0/001$). The use of metformin in once, one week and three weeks improved the effects of STZ ($p<0/001$). But metformin in eleven weeks treatment period don't have significant effect on memory retrieval and the number of intact neurons in hippocampal CA1 area compared to the STZ group ($p>0/05$).

Conclusion: Both acute and chronic metformin uses have different effects on memory retrieval and the number of intact hippocampal CA1 area neurons.

Keywords: Metformin, Streptozotocin, Memory, Hippocampus

How to cite this article: Darbandi N, Moghadasi S, Momeni H R. [The acute and chronic effects of metformin on memory retrieval and hippocampal CA1 area intact neurons in streptozotocin-induced Alzheimeric male rats]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):38-47. Persian.

مقاله پژوهشی

مقایسه اثرات حاد و مزمن متفورمین بر بازخوانی حافظه و تعداد نوروهای سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ در رت های نر آلازیمری شده با استرپتوزوتوسین

نیلوفر دربندی^{*} ID، سمیرا مقدسی^{ID}، حمیدرضا مومنی^{ID}گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، ایران
^{*}نویسنده مسئول؛ ایمیل: N-Darbandi@araku.ac.irدریافت: ۱۳۹۵/۹/۱۶ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۶ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ آذر و دی؛ ۴۰(۵): ۳۸-۴۷

چکیده

زمینه: در این پژوهش، اثرات متفورمین به دو صورت حاد و مزمن بر بازخوانی حافظه و تعداد نوروهای سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ در رت های نر آلازیمری شده با استرپتوزوتوسین بررسی شد.

روش کار: ۴۸ سر رت نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۲۰-۲۵۰ گرم به ۶ گروه تقسیم شدند: گروه کنترل (سالمین-سالمین)، گروه استرپتوزوتوسین (استرپتوزوتوسین-سالمین)، گروه های تیمار با استرپتوزوتوسین به همراه متفورمین به صورت یک نوبته، یک هفته، سه هفته و یازده هفته. تزریق درون بطن مغزی استرپتوزوتوسین (۳mg/kg) در روز اول و سوم پس از جراحی و تزریق درون صفاقی متفورمین (۲۰۰mg/kg) یا سالمین (ml/kg) روزانه از یک روز قبل از جراحی تا پایان دوره تیمار انجام گرفت. پس از تست رفتاری، حیوانات کشته و مغز آنها فیکس شد و تعداد نوروهای سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ بررسی شد. آنالیزهای آماری توسط نرم افزار SPSS، ANOVA و نرم افزار Prisme انجام گرفت.

یافته ها: تزریق STZ به طور معناداری به خاطر آوری حافظه ($p < 0/001$) و تعداد نوروهای سالم ($p < 0/001$) ناحیه CA1 را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. استفاده از متفورمین در تیمارهای یک نوبته، یک هفته و سه هفته اثرات ناشی از STZ را بهبود بخشید ($p < 0/001$). اما متفورمین در دوره تیمار یازده هفته تاثیر معناداری بر بازخوانی حافظه و تعداد نوروهای سالم در ناحیه CA1 هیپوکامپ نداشت ($p > 0/05$).

نتیجه گیری: مصرف حاد و مزمن متفورمین اثرات متفاوتی بر بازخوانی حافظه و تعداد نوروهای سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ دارد.

کلید واژه ها: متفورمین، استرپتوزوتوسین، حافظه، هیپوکامپ.

نحوه استناد به این مقاله: دربندی ن، مقدسی س، مومنی ح. ر. مقایسه اثرات حاد و مزمن متفورمین بر بازخوانی حافظه و تعداد نوروهای سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ در رت های نر آلازیمری شده با استرپتوزوتوسین مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۳۸-۴۷

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

بیماری آلزایمر همراه با کاهش حافظه، اختلال در حساسیت انسولین مغزی، اختلال در مصرف گلوکز و متابولیسم انرژی در انسان ایجاد می‌شود. این عوامل باعث ایجاد مقاومت انسولینی، التهاب و استرس اکسیداتیو می‌شود و به دنبال آن مرگ نورونی، از بین رفتن اتصالات سیناپسی، ایجاد پلاک‌های آمیلوئیدی و کلافه‌های نوروفیبریلی رخ خواهد داد (۱). به نظر می‌رسد نواقص زیادی در علامت‌دهی انسولین در مغز بیماران مبتلا به آلزایمر وجود داشته باشد که به کاهش مصرف گلوکز و متابولیسم انرژی منجر خواهد شد. همان‌طور که دیابت نوع دو با مقاومت محیطی انسولین مرتبط است، آلزایمر یا دیابت نوع سوم نیز با مقاومت مغزی انسولین مواجه است. در بیماری آلزایمر، برداشت ناکافی انسولین و علامت‌دهی ناقص در مغز نشانه‌ای از مقاومت به انسولین محسوب می‌شود (۲). انسولین متابولیسم پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید بتا را در نورون‌ها تعدیل کرده و از تجمع آمیلوئید بتا در مغز جلوگیری می‌نماید. از این رو پژوهش‌ها در مورد نقش عوامل دارویی که می‌تواند مقاومت به انسولین نورون‌ها را بهبود ببخشد برای درمان بیماری آلزایمر مورد توجه ویژه قرار گرفته است. در این بیماری هم‌چنین کاهش و پس رفت سلولی در نواحی مغزی به‌خصوص نواحی که برای یادگیری و حافظه مهم هستند از جمله هیپوکامپ و کورتکس پیش‌پیشانی (pre frontal) اتفاق می‌افتد که منجر به اشکالاتی در تفکر، قضاوت، هماهنگی‌های بینایی، احساس، تصمیم‌گیری و برنامه‌ریزی می‌شود. با افزایش سن احتمال دمانس مغزی هم افزایش می‌یابد (۳).

استرپتوزوتوسین دارای ساختار سمی (N-methyl-N-) nitrosourea است که به مولکول گلوکز متصل شده و توسط انتقال دهنده GLUT2 جذب می‌شود (۴). این ماده با افزایش تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS Reactive Oxygen species) سبب تشدید استرس اکسیداتیو در بعضی از نواحی مغز از جمله هیپوکامپ می‌شود (۵). هم‌چنین استرپتوزوتوسین از طریق تولید فرآورده‌هایی نظیر ۳-متیل آدنین و ۷-متیل گوانین منجر به متیلاسیون DNA می‌شود که از این طریق با آسیب به DNA، کاهش بیان پروتئین و کاهش ذخیره انرژی سلولی منجر به آپاتوز نورونی می‌شود (۶).

متفورمین دارویی از خانواده‌ی Biguanide بوده و از گیاهی به نام Gallega Officinalis به‌دست می‌آید. این دارو در دیابت نوع II به تنهایی یا همراه با سایر داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون و یا انسولین مورد استفاده قرار می‌گیرد. متفورمین از طریق کاهش برون‌ده گلوکز و افزایش جذب گلوکز در بافت‌های محیطی و به‌طور عمده ماهیچه‌ها باعث کاهش سطح قند خون می‌شود. علاوه بر آن متفورمین دارای خواص آنتی اکسیدانی بوده و از طریق جلوگیری از تنفس میتوکندریایی از یک طرف تولید اکسیژن

فعال را کاهش داده و از طرف دیگر با کاهش سطح ATP و فعال کردن مسیر کاتابولیک وابسته به AMP-activated protein kinase (AMPK) گلوکونئوز را کاهش می‌دهد (۷) و از این طریق منجر به حفاظت نورونی می‌شود. به همین سبب می‌تواند برای بهبود علائم بیماری آلزایمر مورد استفاده قرار گیرد (۸).

با وجود اثرات حفاظت نورونی که برای متفورمین شناخته شده است، مصرف بلند مدت این دارو در برخی بیماران با خطر ابتلاء به اسیدوز لاکتیک همراه است. متفورمین با ممانعت از زنجیره تنفسی میتوکندریایی در سلول‌های کبدی لاکتات خون را افزایش می‌دهد. در افراد با نارسایی‌های کلیه‌ای متفورمین دفع نمی‌شود و به همین دلیل غلظت آن در بدن افزایش یافته و می‌تواند سطح بالاتری از لاکتات را در بدن تولید کند. بنابراین مصرف متفورمین در افراد مسن و یا افراد با نارسایی‌های کلیه‌ای، کبدی و ناراحتی‌های قلبی با خطر بالای اسیدوز لاکتیک همراه است. همین عامل می‌تواند باعث افزایش سطح استرس اکسیداتیو شود (۹).

با توجه به مطالب بالا و اثرات دوگانه‌ای که برای متفورمین گزارش شده است، در مطالعه حاضر به بررسی اثرات تزریق حاد و مزمن متفورمین بر بازخوانی حافظه و تعداد نورون‌های سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ در رت‌های نر آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین پرداخته شد.

روش کار

در این مطالعه آزمایشگاهی پژوهشی اصیل از رت‌های نر نژاد ویستار (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۲۰ گرم استفاده شد. در راستای انجام این تحقیق کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مد نظر قرار گرفته شد. این حیوانات به صورت گروه‌های چهارتایی نگهداری و برای عادت کردن به محیط جدید حدود یک هفته قبل از شروع آزمایش، به حیوان‌خانه منتقل شدند. محل نگهداری حیوانات دارای دوره روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی هفت صبح)، دمای ۲۲±۲ درجه سانتیگراد بود و آزمایش‌ها در زمان معینی از روز انجام می‌گرفت. هشت حیوان در هر گروه تجربی قرار داشت و هر حیوان فقط یکبار آزمایش می‌شد. تمامی آزمایشات بر پایه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی تایید شده توسط دانشگاه علوم پزشکی اراک صورت گرفت.

کنامین هیدروکلراید و زایلین (ساخت شرکت Alfasan) به صورت درون صفاقی جهت بیهوش کردن حیوان مورد استفاده قرار گرفت. پودر استرپتوزوتوسین (ساخت شرکت سیگما-آمریکا) به صورت محلول در نرمال سالین با غلظت مشخص (۳mg/kg) به صورت درون بطن مغزی جهت القای آلزایمر به کار

یک جریان الکتریکی به مدت ۳ ثانیه و شدت ۱ میلی آمپر در میله‌های فلزی برقرار می‌شود. یادگیری اجتنابی غیرفعال به روش "گذر از یک بخش دستگاه به بخش دیگر" (Step through) برای بررسی حافظه در موش‌های آزمایشگاهی در دو روز پشت سر هم انجام می‌شود. روز اول یا روز آموزش شامل آموزش دادن حیوانات در دستگاه می‌باشد، روز دوم یا روز آزمون شامل بررسی میزان حافظه حیوانات آموزش دیده است (۱۲).

در این تحقیق شش گروه از حیوانات در روزهای اول و سوم پس از جراحی به وسیله استرپتوزوتوسین (3mg/kg) و یا سالین به میزان ۱۰ میکرولیتر در هر بطن تیمار شدند. همه حیوانات سالین (ml/kg) یا متفورمین (200mg/kg) را به صورت درون صفاقی در دوره تیمارهای مختلف دریافت کردند. در پایان تیمار، حیوانات در دستگاه حافظه اجتنابی غیر فعال (Step Through) آموزش دیدند. ۲۴ ساعت بعد، آزمون حافظه انجام شد. پس از پایان آزمون رفتاری، پرفیوژن مغزی انجام شد. برای انجام این عمل از محلول پارافرمالدهید ۴۰ درصد جهت فیکس کردن مغز استفاده شد. پس از خارج نمودن مغز از مجموعه تمام مراحل پاساژ بافتی شامل قرارگیری نمونه‌ها در دستگاه پاساژ، بلوک‌گیری، برش‌گیری توسط میکروتوم و رنگ آمیزی با کمک روش رنگ‌آمیزی همتوکسیلین و ائوزین انجام و در نهایت نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت (۱۳).

آنالیز داده‌های حاصل از آزمایش‌های رفتاری توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت و با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way Anova) و آزمون توکی (Tukey-test) سطح معنادار بودن آن‌ها تعیین شد. آنالیز داده‌های حاصل از آزمایش‌های بافتی توسط نرم‌افزار Prisme و با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه صورت گرفت.

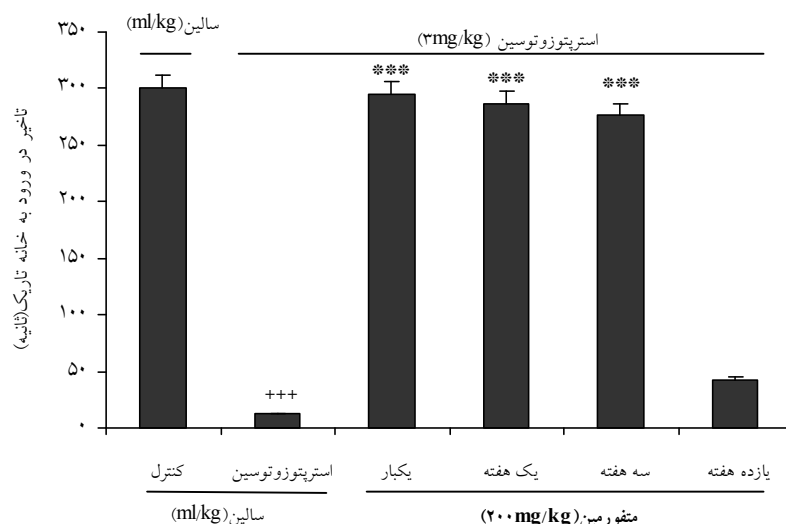
یافته‌ها

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه داده‌های آزمون رفتاری نشان داد که تزریق داخل بطن مغزی استرپتوزوتوسین (3mg/kg) در روزهای اول و سوم پس از جراحی، باعث کاهش زمان ورود به اتاق تاریک (STL) (نمودار ۱) و همچنین افزایش مجموع مدت زمان باقی ماندن حیوان در اتاق تاریک (TDC) (نمودار ۲) نسبت به گروه کنترل شد که به معنی تخریب حافظه است ($P < 0.001$).

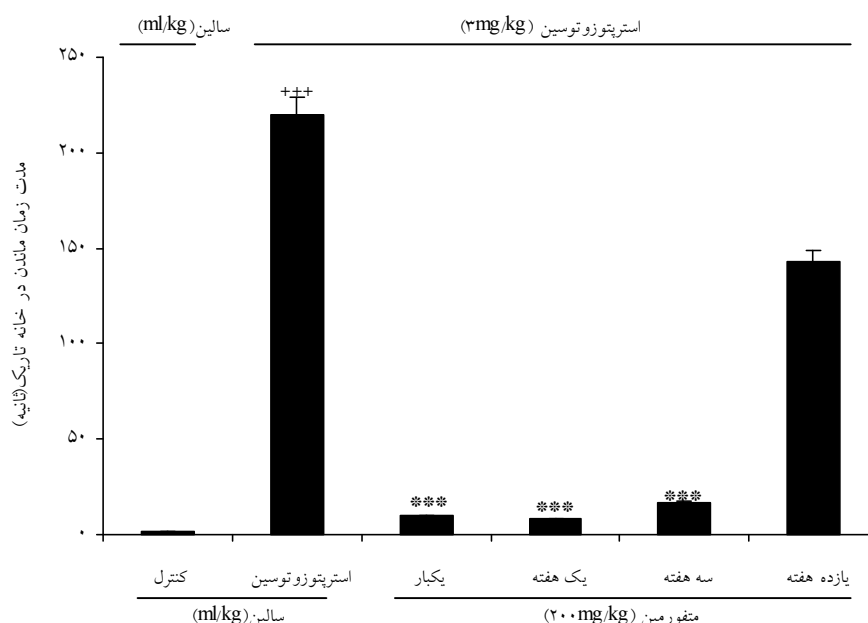
برده شد. متفورمین (ساخت شرکت آریا دارو-تهران) به صورت محلول در نرمال سالین، با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به صورت تزریق درون صفاقی در دوره تیمارهای مختلف مورد استفاده قرار گرفت.

جهت جراحی و کاتول گذاری در ناحیه بطن‌های جانبی ابتدا هر موش بر اساس وزن به وسیله تزریق درون صفاقی مخلوطی از کتامین (50mg/kg) و زایلین (5mg/kg) بیهوش شد. مختصات بطن‌های جانبی بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۰) به دست آمد ($0/8$) به سمت عقب از برگما، $1/4$ میلی‌متر در طرفین شکاف ساژیتال و $3/5$ میلی‌متر به طرف پایین از سطح جمجمه. در سطح جمجمه محل کاتول گذاری توسط مته دندانپزشکی تا پرده مننژ سوراخ شد. کاتول‌های راهنما به طول ۸ میلی‌متر از سر سوزن ۲۲ گیج تهیه شده و به صورت دوطرفه در محل‌های سوراخ شده، حدود ۱ میلی‌متر بالاتر از ناحیه مورد نظر به کمک آکريل دندانپزشکی ثابت شد. برای جلوگیری از بسته شدن کاتول راهنما قبل از تزریق، سرسوزن‌های دندانپزشکی به شماره ۳۰ گیج که به اندازه طول کاتول راهنما بریده می‌شد، در داخل آن قرار گرفت (۱۱).

برای تزریق درون بطن مغزی دارو، حیوان به آرامی توسط دست گرفته شد. سر سوزن ۳۰ گیج از کاتول راهنما خارج شده و به کمک سر سوزن دندانپزشکی ۲۷ گیج (که ۱ میلی متر بلندتر از کاتول راهنما بریده شده بود)، رابط پلی اتیلن و سرنگ هاملتون ۲۵ میکرولیتری تزریقات مرکزی انجام شد. تزریق درون بطن مغزی استرپتوزوتوسین با دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم و با حجم ۱۰ میکرولیتر در هر بطن در روزهای اول و سوم پس از جراحی صورت گرفت. برای اطمینان از جذب کامل دارو از طریق کاتول تزریق به داخل ناحیه مغزی موردنظر، کاتول تزریق با تاخیر ۳۰ تا ۶۰ ثانیه ای پس از تزریق خارج شد. در پایان آزمایش برای ارزیابی صحت عملیات و درستی مختصات محل جراحی و تزریق، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول ۱ درصد متیلن بلو به صورت دوطرفه تزریق شد، مغز حیوان از مجموعه خارج و در محلول فرمالین ۱۰ درصد به مدت ۱ روز ثابت شد. برش‌گیری در ناحیه تزریق و بررسی توزیع رنگ در فضای بطن‌های جانبی بیان‌گر میزان صحت کاتول گذاری بود. داده‌های حیواناتی که محل کاتول گذاری آن‌ها خارج از ناحیه بطن‌های جانبی بود از آنالیزها حذف شد. دستگاه سنجش حافظه از جنس پلکسی گلاس (ساخت شرکت برج صنعت-تهران) و دارای دو سمت مجزا یکی به رنگ سیاه ($20 \times 20 \times 30$ سانتیمتر) و دیگری به رنگ سفید ($20 \times 20 \times 30$ سانتیمتر) است که توسط یک درب گیوتینی (7×9 سانتیمتر) واقع در دیواره میانی این دو بخش به یکدیگر راه دارند. در کف بخش سیاه رنگ میله‌های فلزی به قطر $2/5$ میلی‌متر و فواصل ۱ سانتیمتر از یکدیگر قرار گرفته است. هنگامی که دستگاه روشن می‌شود



نمودار ۱: مقایسه حافظه اجتنابی غیرفعال در گروه های آزمایشی. اندازه گیری میزان تأخیر در ورود به خانه تاریک (STL)



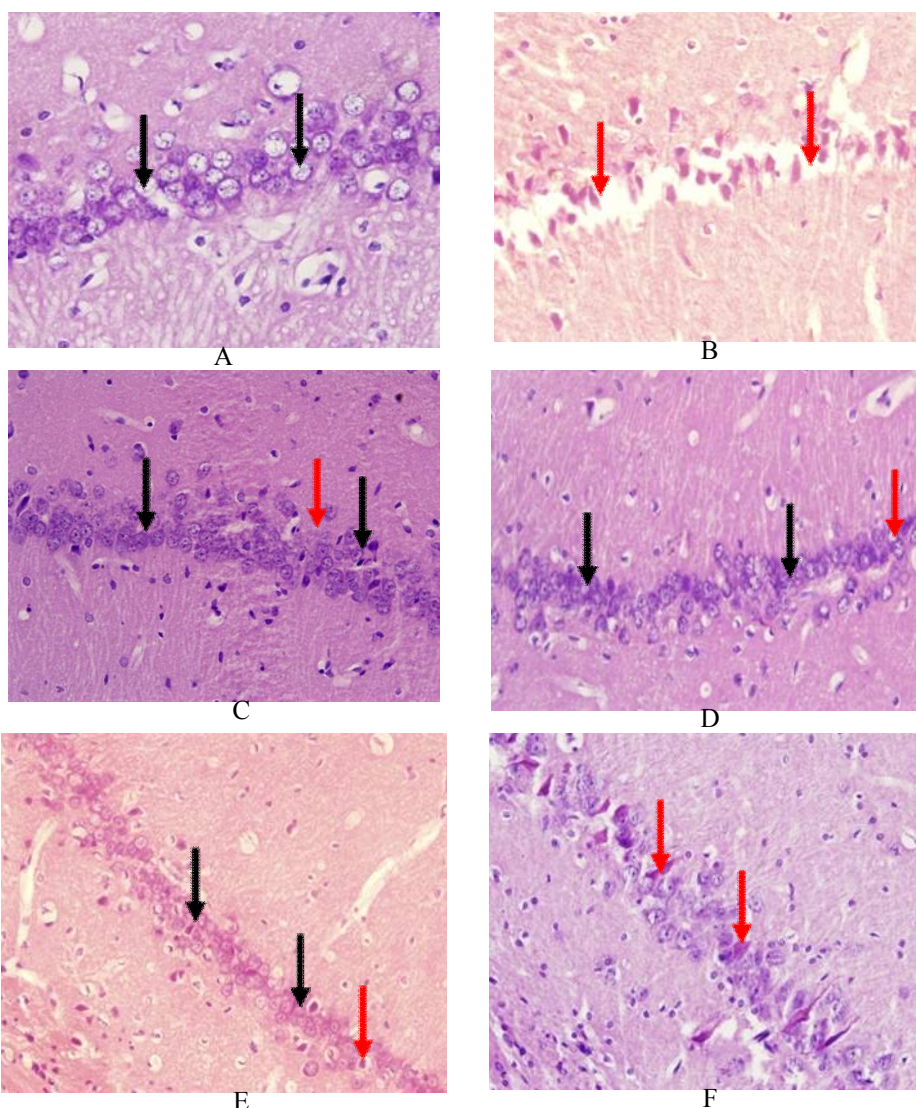
نمودار ۲: مقایسه حافظه اجتنابی غیرفعال در گروه های آزمایشی. اندازه گیری مدت زمان ماندن حیوانات در قسمت تاریک (TDC).

مدت یک هفته و سه هفته منجر به بهبود به خاطر آوری حافظه نسبت به گروه STZ می شود ($p < 0/001$). اما تزریق متفورمین (200 mg/kg) از یک روز قبل از جراحی به مدت ۱۱ هفته نتوانست به طور معناداری به خاطر آوری حافظه را نسبت به گروه STZ بهبود ببخشد ($p > 0/05$) (نمودار ۱). آزمون مکمل Tukey نشان می دهد که متفورمین در دوره تیمارهای یکبار، یک هفته و سه هفته به طور معناداری منجر به افزایش زمان STL نسبت به گروه STZ شده [$p < 0/001$].

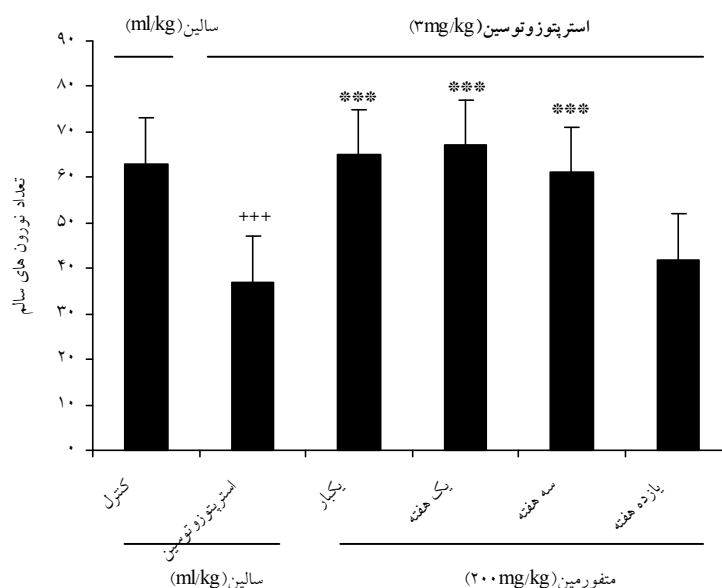
تجویز متفورمین (200 mg/kg) به صورت درون صفاقی در دوره تیمارهای مختلف به همراه تزریق استریتوزوتوسین (3 mg/kg) به صورت درون مغزی در روز اول و سوم پس از جراحی، حافظه را با نسبت های مختلف در مقایسه با گروه STZ بهبود بخشید. آنالیز واریانس یک طرفه داده های حاصل از تزریق داروی STZ به همراه متفورمین نشان داد که تزریق متفورمین (200 mg/kg) یکبار پس از آموزش، همچنین تزریق متفورمین (200 mg/kg) از یک روز قبل از جراحی به

نورنی در ناحیه CA1 هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل می شود (شکل B-1). تزریق درون صفاقی متفورمین (۲۰۰ mg/kg) در دوره تیمارهای یکبار پس از آموزش (شکل C-1)، یک هفته (شکل D-1) و سه هفته (شکل E-1) توانست نورون های ناحیه CA1 هیپوکامپ را در برابر آسیب استرپتوزوتوسین حفاظت کند. برش‌های بافتی در گروه تیمار شده با متفورمین به مدت ۱۱ هفته (شکل F-1) تفاوت معناداری با گروه STZ نشان نداد ($p > 0.05$).

و $F(4,36) = 22.879$ ، همچنین مجموع زمان باقی ماندن حیوان در اتاق تاریک (TDC) را به طور معناداری کاهش می دهد [$F(4,36) = 86.581$ و $p < 0.001$] (نمودار ۲). بررسی‌های بافتی برش‌های مغز به کمک رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین نشان داد نورون‌های موجود در مغز گروه کنترل کاملاً سالم بوده و تراکم نورونی در ناحیه CA1 هیپوکامپ آن‌ها زیاد است (شکل A-1). در حالی‌که استرپتوزوتوسین (۳ mg/kg) به طور معناداری منجر به مرگ



شکل ۱: مقایسه نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ رنگ آمیزی شده به روش هماتوکسیلین-ئوزین در گروه های (A) کنترل، (B) استرپتوزوتوسین و گروه های دریافت کننده استرپتوزوتوسین به همراه تزریق درون صفاقی متفورمین (۲۰۰mg/kg) در دوره تیمارهای (C) یکبار پس از آموزش (D) یک هفته، (E) سه هفته و (F) یازده هفته. (بزرگنمایی ۴۰۰X). فلش‌های سیاه نشان‌دهنده نورون‌های سالم و فلش‌های قرمز نشان‌دهنده نورن‌های مرده است.



نمودار ۳: مقایسه تعداد نورون های سالم در ناحیه CA1 هیپوکامپ در مغز گروه کنترل، گروه آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین و گروه های آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین به همراه تیمار متفورمین (۲۰۰mg/kg) در طول تیمارهای مختلف.

است. همچنین بررسی های بافتی صورت گرفته در پایان دوره تیمار نشان داد که تعداد نورون های سالم در ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه STZ در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری کاهش یافته است. مطالعات گذشته نتایج حاصل از این تحقیق را تایید می کنند (۱۶-۲۱).

تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین موجب بروز مقاومت انسولینی، کاهش میزان انرژی در دسترس سلول های عصبی و افزایش میزان گلوکز در مغز می گردد (۲۲). استرپتوزوتوسین با اثر بر سوبسترای گیرنده های انسولینی باعث کاهش فعالیت مسیر Akt/PKB (Protein kinase B) /Akt/PKB (phosphatidyl inositol 3- kinase) شده و از این طریق باعث کاهش فعالیت آنزیم PI3K Kinase B شده و از این طریق باعث کاهش فعالیت آنزیم GSK3β (glycogen synthase kinase 3β) می گردد. کاهش فعالیت این آنزیم به معنای افزایش تجمع پلاک های بتا آمیلوئیدی و افزایش پروتئین های تائو و کلاسه های نوروفیبریلی است. تمام موارد فوق موجب پس رفت نورونی و از بین رفتن سیناپس ها خواهد شد (۶). استرپتوزوسین همچنین سبب تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش تشکیل رادیکال های فعال اکسیژن در بعضی از نواحی مغز از جمله هیپوکامپ می شود. استرس اکسیداتیو با طیف وسیعی از آسیب های بالینی مانند التهاب، ایسکمی، دیابت، آترواسکلوئوزیس، بیماری های نورودژنره و تشکیل تومور در ارتباط است (۵).

در پژوهش حاضر تجویز درون صفاقی متفورمین (۲۰۰mg/kg) در دوره تیمارهای یکبار پس از آموزش، همچنین در دوره

بر اساس شمارش نورونی صورت گرفته در ناحیه CA1 هیپوکامپ مشاهده شد، تعداد نورون های سالم در ناحیه CA1 گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین به طور معناداری ($P < 0.001$) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (نمودار ۳). همچنین بر اساس داده های به دست آمده تیمار متفورمین به صورت یک نوبته، یک هفته و سه هفته به طور معناداری تعداد نورون های سالم را در مقایسه با گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین افزایش داد ($p < 0.001$). در گروه تیمار شده با متفورمین به مدت ۱۱ هفته تفاوت معناداری در تعداد نورون های سالم در مقایسه با گروه STZ دیده نشد [$F(5,23) = 19.553$ ($p > 0.05$)] (نمودار ۳).

بحث

به منظور سنجش حافظه و یادگیری در حیوانات آزمایشگاهی از الگوهای رفتاری متعددی استفاده می شود. از این بین مدل یادگیری اجتنابی مهاری به صورت گسترده جهت بررسی حافظه بلندمدت در بسیاری از مطالعات فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی مورد استفاده قرار می گیرد (۱۴-۱۵).

داده های به دست آمده از آزمایشات رفتاری در بررسی حاضر نشان داد که تزریق استرپتوزوتوسین (۳mg/kg) با حجم ۱۰ میکرولیتر در هر بطن در روزهای اول و سوم پس از جراحی پس از ۲۱ روز در مقایسه با گروه کنترل زمان ورود به اتاق تاریک (STL) را کاهش و مجموع مدت زمان باقی ماندن حیوان در اتاق تاریک (TDC) را افزایش می دهد که به معنی تخریب حافظه

بهبود دهد. در این دوره تیمار مدت زمان تاخیر حیوان برای ورود به اتاق تاریک نسبت به دیگر گروه‌های تیمار با متفورمین کاهش نشان داد. در بررسی‌های بافتی نیز در این گروه اختلاف معناداری در تعداد نورون‌های سالم در ناحیه CA1 هیپوکامپ در مقایسه با گروه STZ دیده نشد.

مطالعات گذشته نتایج متفاوتی را در این خصوص نشان می‌دهد. در مطالعه‌ای تزریق درون صفاقی متفورمین (200 mg/kg) به مدت ۱۸ هفته در موش‌های مدل دیابتی شده با جلوگیری از کاهش سطح پروتئین سیناپتوفیزین تا حدی منجر به بهبود نتایج حاصل از آزمون ماز آبی موریس شد (۱۱). در مطالعات صورت گرفته در جوندگان که در آن رژیم غذایی پر چرب مورد استفاده قرار گرفت، اضافه نمودن متفورمین به میزان ۱ درصد از وزن بدن به آب آشامیدنی حیوانات به مدت ۶ ماه تقریباً اثری بر میزان حافظه، یادگیری و توانایی‌های شناختی حیوانات نداشت در بررسی بالینی دیگری توسط این محقق نیز که در افراد دیابتی مصرف‌کننده متفورمین انجام شد، نتایج حاصل از آزمون‌های رفتاری و حافظه‌ای نسبت به گروه کنترل مقادیر کم‌تری را نشان داد (۲۸).

اگرچه متفورمین سال‌هاست به عنوان داروی پایین‌آورنده قند خون استفاده شده و دارای اثرات مفیدی است، اما چنانچه گفته شد خود می‌تواند زمینه ساز خطر اسیدوز لاکتیک باشد. در مصرف مزمن این دارو سطح لاکتات پلاسما افزایش یافته و به دنبال آن سطح استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد (۹). علاوه بر آن، مطالعات نشان داده است که در محیط کشت نرونی متفورمین به تنهایی تولید پروتئین بتا آمیلوئید را افزایش می‌دهد در حالی که انسولین به‌تنهایی تولید آن را کاهش می‌دهد. اضافه کردن متفورمین بعد از انسولین این کاهش را تشدید می‌کند. لذا متفورمین تنها در حضور سطح انسولین پایه کافی در بدن توانایی مقابله در برابر استرس اکسیداتیو را دارد. استرپتوزوتوسین با برهم زدن تعادل تولید انسولین و تشدید مقاومت انسولینی به صورت مزمن اثرات حفاظتی متفورمین را مختل می‌کند (۱۹).

با توجه به آنچه گفته شد به‌نظر می‌رسد که در تیمار حاد متفورمین این دارو قادر است از طریق کاهش تنفس میتوکندریایی و دارا بودن خاصیت کاهنده گلوکز خون، کاهش مقاومت انسولینی، هم‌چنین کاهش تولید رادیکال‌های آزاد از طریق کاهش سطح اسیدهای چرب و کلسترول، استرس اکسیداتیو را کاهش داده و از مرگ نرونی جلوگیری نماید. در حالیکه مصرف مزمن متفورمین از طریق افزایش اسیدوز لاکتیک، استرس اکسیداتیو را افزایش داده و منجر به اختلال در عملکرد نورون‌ها و کاهش حافظه می‌شود. این حالت با برهم خوردن تعادل تولید انسولین و مقاومت انسولینی تشدید می‌گردد.

تیمارهای یک هفته و سه هفته که از یک روز قبل از جراحی شروع شده بودند، نتوانست اثرات ناشی از تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین را بر بازخوانی حافظه در مقایسه با گروه STZ به‌طور معناداری بهبود دهد. علاوه بر این بررسی‌های بافتی مغز در پایان دوره تیمارهای ذکر شده نیز نشان داد تعداد نورون‌های سالم در ناحیه CA1 در این گروه‌ها به‌طور معناداری نسبت به گروه STZ افزایش داشته و تقریباً معادل با گروه کنترل شده است. نتایج حاصل از پژوهش محققان دیگر نیز با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد (۱۹، ۲۳-۲۵).

به نظر می‌رسد متفورمین دارای خواص آنتی اکسیدانی است که به‌طور کامل مشخص نشده است. تحقیقات نشان می‌دهد که مقادیر بالای گلوکز خون با افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال در ارتباط است. متفورمین از طریق جلوگیری از تنفس میتوکندریایی منجر به کاهش سطح اکسیژن فعال (ROS) می‌شود. در این مسیر متفورمین از طریق کاهش سطح ATP، مسیر کاتابولیک وابسته به AMPK (AMP- activated protein kinase) را فعال کرده و از این طریق ساخت گلوکز از منابع جدید را کاهش می‌دهد (۷). در مسیر دیگر متفورمین با کاهش تولید فروکتوز ۱،۶- بیس فسفات از گلوکونئوزن می‌کاهد. بررسی‌ها نشان می‌دهد متفورمین با اثر بر میزان فعالیت پروتئین کیناز C نیز قادر است سطح استرس اکسیداتیو را کاهش دهد (۸).

متفورمین با فعال کردن آدنوزین مونوفسفات پروتئین کیناز (AMPK) نقش مهمی در سیگنال‌دهی انسولین، تعادل انرژی کل بدن، متابولیسم گلوکز و چربی‌ها دارد. متفورمین قادر است با کاهش لیپوژنز، سطح سرمی لیپیدها را در خون کاهش داده و از این راه استرس اکسیداتیو را کاهش دهد. متفورمین با فعال کردن AMPK، فسفوریلاسیون استیل کوآکربوکسیلاز را مهار و سطح مالونیل کوآ که پیش‌ساز مهم ساخت اسیدهای چرب است را کاهش می‌دهد. از سوی دیگر متفورمین باعث فعال شدن لیپوپروتئین لیپاز شده و امکان تجزیه لیپوپروتئین VLDL به اسیدچرب را فراهم کرده و اکسیداسیون اسیدهای چرب را فراهم می‌کند (۲۶).

متفورمین سطح کلسترول خون را نیز کاهش می‌دهد. بالا بودن کلسترول نیز زمینه ساز استرس اکسیداتیو است. متفورمین از طریق AMPK، آنزیم سیتوزولی بیوستز کلسترول را فسفریله و مهار کرده، در نتیجه بیوستز کلسترول کاهش می‌یابد. هم‌چنین با کاهش بیوستز تری آسید گلیسرول در کبد سطح تری گلیسرید را نیز کاهش می‌دهد (۲۷).

علاوه بر آن پژوهش حاضر نشان داد، تجویز درون‌صفاقی متفورمین (200 mg/kg) از یک روز قبل از جراحی به مدت یازده هفته نتوانست اثرات ناشی از تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین را بر بازخوانی حافظه در مقایسه با گروه STZ به‌طور معناداری

نتیجه گیری

متفورمین در مصرف کوتاه مدت با کاهش استرس اکسیداتیو باعث بهبود حافظه و افزایش تعداد نورون های سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ شده اما در مصرف طولانی مدت با ایجاد اسیدوز لاکتیک باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و افزایش مرگ نورونی می شود.

قدردانی

این تحقیق با کمک مالی دانشگاه اراک انجام شده است. همچنین از زحمات کارشناسان و مسئولین آزمایشگاه تحقیقاتی

فیزیولوژی جانوری دانشکده زیست شناسی دانشگاه اراک تشکر و قدردانی می شود. این مقاله بر گرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد خانم سمیرا مقدسی به شماره ۲۳۳۳۸۹۰ می باشد.

References

1. Dela Monte S. Type 3 diabetes is sporadic Alzheimer's disease: Mini-review. *European Neuro psychopharmacology* 2014; **24**: 1954-1960. doi: 10.1016/j.euroneuro.2014.06.008
2. Butterfield D A, Domenico F, Barone E. Elevated risk of type 2 diabetes for development of Alzheimer disease: Akey role for oxidative stress in brain. *Biochimica et Biophysica Acta* 2014; **1842**: 1693-1706. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.06.010
3. Su Y, Wanga Q, Wang Ch, Chan K, Sun Y, Kuang H. The treatment of Alzheimers disease using Chinese Medicinal Plants: From disease models to potential clinical applications. *Journal of Ethnopharmacology* 2014; **152**: 403-423. doi: 10.1016/j.jep.2013.12.053
4. Eleazu C, Eleazu K, Chukwuma S, Essien U. Review of the mechanism of cell death resultingfrom streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential riskto humans. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders* 2013; **12**: 60. doi: 10.1186/2251-6581-12-60
5. Mayer G, Nitsch R, Hoyer S. Effects of changes inperipheral and cerebral glucose metabolism on locomotoractivity, learning and memory in adult rats. *Brain Res* 1990; **532**: 95-100. doi: 10.1016/0006-8993(90)91747-5
6. Kamat P. Streptozotocin (ICV) induced neurotoxicity and brain insulin resistant: A therapeutic intervention for treatment of sporadicAlzheimer's disease (SAD) like pathology. *Article in Molecular Neurobiology* August 2015.
7. Jin Q, Cheng J, Liu Y, Wu J, Wang X, Wei S, et al. Improvement of functional recovery by chronic metformin treatment is associated with enhanced alternative activation of microglia/macrophages and increased angiogenesis and neurogenesis following experimental stroke. *Brain, Behavior, and Immunity* 2014; **40**: 131-142. doi: 10.1016/j.bbi.2014.03.003
8. Rojas L B, Gomes M B. Metformin: an old but still the best treatment for type 2 diabetes .*Rojas and Gomes Dialectology & Metabolic Syndrome* 2013; **5**: 6.
9. DeFronzo R, Fleming A, Chen k. Metformin-associated lactic acidosis: Current perspectives on causes and risk. *Metabolisms incisal and experimental* 2016; **65**: 20-29. doi: 10.1016/j.metabol.2016.05.014
10. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic*. 4th ed. San Diego, *Academic Press*. 1998; **21**. doi: 10.1016/b978-0-12-547620-1.50009-6
11. Li J, Deng J, Sheng W, Zuo Z. Metformin attenuates Alzheimer's disease-like neuropathology in obese, leptin-resistant mice. *Pharmacology Biochem Behave* 2012; **101**(4): 564-674. doi: 10.1016/j.pbb.2012.03.002
12. Zarrindast M R, Bakhsha A, Rostami P, Shafaghi B. Effects of intra hippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. *J Psychopharmacology* 2002; **16**(4): 313-319.
13. Liu J, Wang A, Li L, Huang Y, Xue P, Hao A. Oxidative stress mediates hippocampal neuron death in rats after lithium-pilocarpine-induced status epilepticus. *Seizure* 2010; **19**(3): 165-172. doi: 10.1016/j.seizure.2010.01.010
14. Passamonti S, Vrhovsek U, Vanzo A, Mattivi F. Fast Access of Some Grape Pigments to the Brain. *J Agric Food Chem* 2005; **53**(18): 7029-7034.
15. Wein S, Behm N, Petersen R K, Kristiansen K. Quercetin Enhances Adiponectin Secretion by a Ppar-Gamma Independent Mechanism. *Eur J Pharm Sci* 2010; **41**(1): 16-22. doi: 10.1016/j.ejps.2010.05.004
16. Vishwakarma S, Goyal R, Gupta V. GABAergic effect of valeric acid from Valeriana Wallachia in amelioration of ICV STZ induced dementia in rats. *Kanaya Lal Dhar Revista Brasileira de Farmacognosia* 2016. doi: 10.1016/j.bjp.2016.02.008
17. Khalili M, Kiasalari Z, Rahmati B, Narenjkar J. Behavioral and Histological Analysis of Crocus Statives Effect in Intracerebroventricular Streptozotocin Model of Alzheimer Disease in Rats. *Iranian Journal of Pathology* 2010; **5**(1): 27-33.

18. Mohammadzadeh E, Alipour F, Khallaghi B. Evaluation of Spatial Memory Impairment after Intracerebroventricular Streptozocin Injection in Adult Rat. *Shefa Neuroscience Research Center* 2014. doi: 10.18869/acadpub.shefa.2.1.40
19. Esmaeili M H, Mafe-Esmaeili M. The effect of metformin on memory retention of inhibitory avoidance learning in streptozotocin-induced rat model of alzheimer's disease. *Journal of Kashan University of Medical Sciences* 2015; **19**: 1-7.
20. Beheshti S, Aghaie R. Therapeutic effect of frankincense in a rat model of Alzheimer's disease. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 2016; **6**(4): 468-475. doi: 10.15171/jhp.2018.31
21. Bahramian A, Rastegar K, Namavar MR, Moosavi M. Insulin potentiates the therapeutic effect of meantime against central STZ-induced spatial learning and memory deficit. *Behavioral Brain Research* 2016; **311**: 247-254. doi: 10.1016/j.bbr.2016.05.046
22. Rasoolijazi H, Joghataie M T, Roghani M, Nobakht M. The Beneficial Effect of Epigallocatechin-3-Gallate in an Experimental Model of Alzheimer's disease in Rat: A Behavioral Analysis. *Iran Biomed J* 2007; **11**(4): 237-243.
23. Lennox R, Porter D, Flatt P, Holscher C, Irwin N, Gault V. Comparison of the independent and combined effects of sub-chronic therapy with metformin and a stable GLP-1 receptor agonist on cognitive function. Hippocampal synaptic plasticity and metabolic control in high-fat fed mice. *Neuropharmacology* 2014; **86**: 22-30. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.06.026
24. Khallaghi B, Safarian F, Nasoohi S, Ahmadiani A, Dargahi L. Metformin-induced protection against oxidative stress is associated with AKT/mTOR restoration in PC12 cells. *Life Sciences* 2016; **148**: 286-292. doi: 10.1016/j.lfs.2016.02.024
25. Asadbegi M, Yaghmaei P, Salehi I, Ebrahim-Habibi A, Komaki A. Neuroprotective effects of metformin against A-mediated inhibition of long-term potentiation in rats fed a high-fat diet. *Brain Research Bulletin* 2016; **121**: 178-185. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.02.005
26. Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clinical Science* 2012; **122**(6): 253-270. doi: 10.1042/cs20110386
27. Rena G, Pearson E, Sakamoto K. Molecular mechanism of action of metformin: old or new insights. *Diabetologia* 2013; **56**: 1898-1906. doi: 10.1007/s00125-013-2991-0
28. Allard J S, Perez E J, Fukuic K, Carpenter P, Ingrave D, Cabod R. Prolonged metformin treatment leads to reduced transcription of Nrf2 and neurotrophic factors without cognitive impairment in older C57BL/6J mice. *Behavioral Brain Research* 2016; **301**: 1-9. doi: 10.1016/j.bbr.2015.12.012

Original Article

Polymorphisms of T-cell immunoglobulin Domain-1 Gene and its Association with Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma

Farzad Alizadeh Mofrad^{1*}, Farid Dolatshahi², Mostafa Kolahi³, Sabar Aghamohammadi¹

¹Department of Biology, School of Science, Islamic Azad University of Urmia, Iran.

²Department of Biology, School of Science, Islamic Azad University of Damghan, Iran.

³Department of Biology, School of Science, Islamic Azad University of Saveh, Iran.

*Corresponding author; E-mail: Khashayarsha2500@gmail.com

Received: 16 October 2016 Accepted: 27 November 2016 First Published online: 13 December 2018

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):48-54

Abstract

Background: Many immunologic and inflammatory mechanisms play a role in asthma etiology. A member of a T cell immunoglobulin (Ig) domain and mucin domain (TIM) gene family, TIM-1, in 5q31-33 region is shown to be correlated with development of T helper-2 (TH2) Cells and allergic diseases. So the aim of this study was to investigate the association of the genotype and allele frequencies of the TIM-1 polymorphisms with asthma and the relationships among this polymorphism to IgE levels in patients with asthma.

Methods: PCR-RFLP (Polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism) and polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) were used for investigating the presence of TIM-1 polymorphisms in 200 asthmatic patients and 200 healthy controls. To assess the frequency of genotypes and its relationship with serum immunoglobulin E and asthma, chi-square test was used and $P < 0.05$ was considered significant.

Results: The genotype and allele frequency of TIM-1 polymorphisms were significantly different between the patient and controls. Significant association was observed between this polymorphism and the risk of asthma.

Conclusion: The 5529A>G, 416G>C and 5529A>G polymorphisms of TIM1 gene may be associated the susceptibility of asthma and also with total serum IgE levels.

Keywords: Asthma, TIM-1, Polymorphism, Serum total immunoglobulin E.

How to cite this article: Alizadeh Mofrad F, Dolatshahi F, Kolahi M, Aghamohammadi S. [Polymorphisms of T-cell immunoglobulin Domain-1 Gene and its Association with Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):48-54. Persian.

مقاله پژوهشی

پلی مورفیسم های ژن موسینی نوع یک سلول T و ارتباط آنها با سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم

فرزاد عالی زاده مفرد^{۱*}، فرید دولتشاهی^۲، مصطفی کلاهی^۳، صابر آقا محمدی^۱

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ایران
^۲گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، ایران
^۳گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ایران
 *نویسنده مسئول: ایمیل Khashayarsha2500@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۵/۷/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۷ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ آذر و دی؛ ۴۰(۵): ۴۸-۵۴

چکیده

زمینه: بسیاری از مکانیسم های ایمونولوژیک و التهابی نقش مهمی در ابتلا به آسم دارند. یکی از اعضای خانواده ژن رمز گذار دومن ایمونوگلوبولینی و موسینی سلول T، TIM-۱ در ناحیه q31-33۵ قرار دارد. ناحیه ای که ارتباط آن با سلول های TH2 (T helpers2) و بیماری آلرژیک اثبات شده است. بنابراین هدف از انجام این پژوهش ارتباط پلی مورفیسم های ژن TIM-۱ با میزان آمادگی دچار شدن به آسم و سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم بود.

روش کار: (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) و (Polyacrylamide gelelectrophoresis, PAGE) به منظور بررسی حضور پلی مورفیسم های سکانس های ژن TIM-۱ در ۲۰۰ بیمار مبتلا به آسم و ۲۰۰ فرد سالم استفاده شد. از آزمون کای دو برای بررسی فراوانی ژنوتیپ افراد و رابطه آن با میزان ایمونوگلوبولین E تام سرمی و بیماری آسم استفاده گردید. $P < 0.05$ معنی دار محسوب شد.

یافته ها: فراوانی پلی مورفیسم های ژن TIM-۱ میان دو گروه مبتلا به آسم و کنترل متفاوت بود و ارتباط معنی داری میان این پلی مورفیسم ها و خطر - ابتلا به بیماری آسم دیده شد.

نتیجه گیری: یافته های ما در این پژوهش نشان داد که پلی مورفیسم های $A > G5529A$ و $G > C5529A$ ، $G > C$ ژن TIM-۱ با بیماری آسم و همچنین این پلی مورفیسم ها با سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی ارتباط معنی داری دارند.

کلید واژه ها: آسم، TIM-۱، پلی مورفیسم، ایمونوگلوبولین E تام سرمی

نحوه استناد به این مقاله: عالی زاده مفرد ف، دولتشاهی ف، کلاهی م، آقا محمدی ص. پلی مورفیسم های ژن موسینی نوع یک سلول T و ارتباط آنها با سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۴۸-۵۴

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کریئو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هر گونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

آسم یک بیماری التهابی رایج مزمن مجاری هوایی است که با افزایش انقباض پذیری عضله صاف پیرامونی، منجر به تنگی راه هوایی و علائم کلاسیک خس خس سینه می‌شود (۲،۱). این تنگ شدن به طور معمول چه با درمان یا بدون آن برگشت پذیر است. ویژگی‌های آن عبارتند از: علائم متغیر و عود کننده، انسداد برگشت پذیر جریان هوا، اسپاسم برونش. نشانه‌های رایج آن عبارتند از: خس خس، سرفه و تنگی نفس که به سه گانه آسم معروف است (۳،۴). بیماری آسم از شایع ترین بیماری های مزمن در جهان است و تعداد بیماران در سطح جهان در حدود ۳۰۰ میلیون می‌باشد و پیش بینی می‌شود که میزان بیماران تا سال ۲۰۲۵ به ۴۰۰ میلیون برسد (۵). میزان بیماران به آسم در ایران در حدود ۵/۵ درصد برآورد می‌شود. آمادگی ابتلا به آسم با جایگاه های ژنی از جمله کروموزوم های ۱۲، ۱۱، ۶، ۷ و ۱۴ ارتباط می‌باشد (۶، ۷). از جمله ژن های مرتبط با بیماری آسم می‌توان به خانواده های TIM (miamod) *T-ille nilubolgonummi dna nicum* اشاره کرد. که نمونه‌ای از مولکول‌های نقاط واریسی ایمنی شناخته می‌شوند (۸). گلیکوپروتئین های خانواده TIM از موج پپتید، منطقه گذر غشایی، دومن موسین، دومن ایمونوگلوبین و دومن سیتوپلاسمیک تشکیل شده‌اند. این خانواده شامل هشت عضو روی کروموزوم موشی ۱۱ و سه عضو روی کروموزوم شماره ۵ در ناحیه ۵q۳۳/۲۵ می‌باشد. در پژوهش‌های گوناگونی ارتباط چندین ژن از جمله ژن موسینی نوع یک سلول TIM-۱ (۱-۱۰) یا *T-ille nilubolgonummi dna nicum miamod*، با بیماری آسم شناسایی شده است (۹، ۱۰). این ژن بر روی لئوسیت‌های DCT۴ تمایز یافته با سلول‌های HT۲، بروز می‌یابد و به عنوان یک محرک کمکی برای فعال شدن این سلول‌ها عمل کرده و نقش مهمی در تنظیم و عملکرد سلول های HT۲ و سایتو کاین های مرتبط دارد. در نتیجه نقش این ژن ها امروزه به طور گسترده و کارآمدی در بیماران به آسم مورد توجه و تاکید قرار گرفته (۱۱، ۱۲، ۱۳) و می‌تواند به صورت بالقوی در استراتژی های تشخیصی و درمانی نوین برای بیماران آسمی مد نظر قرار گیرد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی ارتباط پلی مورفیسمهای $G < A$ -۵۵۲۹G-، $G < G$ -۱۴۵۴A-، $C < G$ -۴۱۶C-، $C > T$ -۵۳۶۵C- و $G < A$ -۲۳۲G- ژن TIM-۱ در بیماران مبتلا به آسم در جمعیت ایران می‌باشد.

روش کار

مطالعه از نوع مورد-شاهدی می‌باشد. در این پژوهش بر روی ۲۰۰ فرد مبتلا به بیماری آسم و ۲۰۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل در جمعیت ایرانی انجام شد. در افراد سالم (کنترل) تلاش شد که از نظر جنسیت و سن با گروه بیماران همخوانی داشته و هیچ گونه پیشینه خانوادگی آلرژی، رینیت آلرژیک، آسم و دیگر بیماری‌های آلرژیک را نداشته باشند. پس از کسب رضایت از افراد مورد بررسی، ۵ میلی لیتر خون محیطی از آنها گرفته شد که ۱/۵ میلی لیتر آن با ماده ضد انعقاد EDTA (با غلظت ۰/۵ مولار) جهت استخراج AND سلولی و باقی مانده جهت گرفتن سرم برای اندازه گیری میزان سطح ایمونوگلوبولین E تام مورد استفاده قرار گرفت. اندازه گیری میزان سطح ایمونوگلوبولین E تام افراد بیمار و کنترل با استفاده

از روش ASILE و کیت استخراج (سیناژن) طبق دستورالعمل شرکت سازنده در هر دو گروه بیمار و کنترل انجام شد. میزان غلظت DNA استخراج شده با دستگاه اسپیکروفومتر با جذب اشعه ماورای بنفش به طور دقیق انجام گرفت. به طوری که میزان جذب پرتوهای ماورای بنفش توسط محلول DNA در طول موج ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر (OD260/OD280) برابر با ۱/۹ بود که بیانگر خلوص مناسب DNA استخراج شده بود. برای بررسی پلی مورفیسم های مورد نظر و مشخص شدن ژنوتیپ های افراد مورد پژوهش، ابتدا قطعه‌های در بر گیرنده‌ای ناحیه رمزگذار TIM-۱ با به کارگیری آغازگرهایی که به صورت اختصاصی طراحی شده بودند، تکثیر گردیدند. در ادامه محصولات PCR از نظر وجود پلی مورفیسم های TIM-۱ با روش RFLP-PCR و با بهره گیری از آنزیم برشی Pst1 (Fermentas، آمریکا) که آلل‌های پلی-مورفیسم را برش می‌دهد مورد بررسی قرار گرفت. واکنش PCR در ۳۵ سیکل در حجم ۲۵ میکرولیتر که دارای، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای، ۳ میکرولیتر DNA، ۷ میکرولیتر H_2O و ۱۳ میکرولیتر MasterMix (Ampliqon، دانمارک) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Giagen، آلمان) به قرار زیر انجام شد: یک سیکل در ۹۵ درجه سانتی-گراد به مدت ۳ دقیقه، آنیلینگ در ۱ دقیقه به مدت ۶۳ درجه سانتی‌گراد، گسترش به مدت ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. پس از رویت محصولات PCR روی ژل، برای صحت تعیین ژنوتیپ ها، چند محصول به صورت تصادفی گزینش و تعیین توالی شد. نتایج تعیین توالی با تعیین ژنوتیپ به طور کامل یکسان بود. برای انجام روش RFLP نیز ۱۲ میکرو لیتر از محصولات PCR توسط یک واحد از آنزیم، بر اساس پروتکل همراه آنزیم به مدت ۹۰ دقیقه انکوباسیون و در ۳۷ درجه سانتی-گراد مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. در ادامه ۷ میکرولیتر از محصول PCR هضم شده در مدت ۱۹۰ دقیقه با ولتاژ ۷۰ بر روی ژل ۲ درصد الکتروفورز گردیدند. برای بررسی اختلاف میان توزیع ژنوتیپی در دو گروه مبتلا و کنترل، آزمون آماری کای دو مورد استفاده قرار گرفت و همچنین RO (oitar sddO) با فاصله اطمینان ۹۵ درصد جهت تخمین ارتباط میان ژنوتیپ های گوناگون پلی مورفیسم های $G > G$ -۵۵۲۹A-، $A < G$ -۱۴۵۴A-، $C < G$ -۴۱۶C- و $A < G$ -۲۳۲G- و سطح ایمونو گلوبولین E تام سرم با خطر ابتلای به بیماری آسم، محاسبه گردید. برای تجزیه و تحلیل هاپلوتایپ‌ها از روش logit loglineer استفاده شد و به منظور بررسی ارتباط پلی مورفیسم‌ها و بیماری آسم از آزمون Logistic-regression استفاده شد. همچنین از آزمون ANOVA برای مقایسه پلی مورفیسم‌های موجود و متغیرهای تاثیرگذار در پاتوژنز بیماری بهره برده شد. در همه محاسبات، $P < 0/05$ به عنوان شاخص ارتباط معنی دار میان ژنوتیپ ها به بیماری آسم مد نظر قرار گرفت.

یافته‌ها

یافته‌های آزمایشگاهی در کنار داده های مربوط به دو گروه بیمار و کنترل در جدول ۲ نشان داده شده است. یافته ها بیانگر عدم تفاوت

نسبت به ژنوتیپ های CT,TT ناحیه پلی مورفیسیم- $T5365 > C$ در دو گروه دارای اختلاف معنی داری بود ($P < 0.001$) و آلل C پلی مورفیسیم- $T5365 > C$ دارای شیوع بیشتری از آلل T در گروه بیماران بود ($P < 0.018$, OR=3.652) (جدول ۱-۲). بررسی ارتباط میان پلی مورفیسیم های موجود با میزان متغیرهای آزمایشگاهی تاثیرگذار در پاتورژن بیماری آسم (IgE و ائوزینوفیل) به طور خلاصه در جدول ۳ و ۲ نشان داده شده است. با توجه به یافته ها، میزان IgE در افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت C-416C- برابر با 1.72 ± 0.651 واحد بر میلی لیتر بود که بیشتر از سایر ژنوتیپ های این ناحیه بود که از لحاظ آماری معنی داری بود ($P < 0.001$). همچنین میزان IgE در افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت C-5529C- برابر با 2.186 ± 0.581 و ژنوتیپ هموزیگوت AA-5529- برابر با 3.817 ± 2.394 واحد بر میلی لیتر بود که ارتباط معنی داری میان ژنوتیپ های هموزیگوت این دو ناحیه با سطح IgE در بیماران نسبت به گروه کنترل نشان می داد (به ترتیب $P < 0.001$ و $P < 0.012$). از سوی دیگر ارتباط معنا داری میان ژنوتیپ های $G > 232A$ - و $A > 1454G$ - با سطح IgE در پاتورژن آسم پیدا نشد ($P > 0.05$) (جدول ۳ و ۲). در ادامه با ارزیابی هاپلوتایپ ها در بیماران و گروه کنترل، یافته ها بیانگر این بود که در میان تمام هاپلوتایپ ها موجود، هاپلوتایپ GGGCC در بیماران به آسم تفاوت معناداری نسبت به گروه کنترل نشان دادند ($P < 0.022$, OR=1/80). ولی شیوع هاپلوتایپ های GAGTT و GGCTT, GACCC دارای تفاوت آماری قابل توجهی نسبت به هاپلوتایپ GGGCC در بیماران نبود ($P > 0.05$). این یافته ها بیانگر احتمال ارتباط میان هاپلوتایپ GGGCC با خطر ابتلا به آسم در جمعیت ایران می باشد ($P < 0.01$).

معنی داری میان سن ($P = 0.399$) و جنس ($P = 0.362$) در دو گروه (بیمار و کنترل) بود که نشان دهنده همسان سازی متغیرها مورد بررسی در این پژوهش می باشد. ولی تعداد ائوزینوفیل ها و سطح ایمونوگلوبولین E در دو گروه بیمار و کنترل از لحاظ آماری به طور بسیار معنی داری بالاتر بود ($P < 0.001$) که نشان دهنده صحت انتخاب دو گروه کنترل و بیمار بود. تعیین ژنوتیپ ها و آلل های در هر دو گروه بیمار و کنترل به طور موفقیت آمیزی انجام شد. فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت AA نسبت به ژنوتیپ های AG,GG ناحیه پلی مورفیسیم- $A > G5529$ در دو گروه دارای اختلاف معنی داری بود ($P < 0.001$) و آلل A پلی مورفیسیم- $A > G5529$ دارای شیوع بیشتری نسبت به آلل G در گروه بیماران بود ($P < 0.012$, OR=0.325). اما سایر اشکال ژنوتیپی این پلی مورفیسیم خود هیچ گونه اثر حفاظتی و خطر ساز در قبال این بیماری نشان ندادند ($P > 0.05$) (جدول ۱-۲). فراوانی ژنوتیپ پلی مورفیسیم $A < 232G$ در دو گروه کنترل و بیمار دارای اختلاف معنی داری نبود ($P > 0.05$) و همچنین تفاوت معنی داری در فراوانی آلل A/G ناحیه $A < 232G$ در دو گروه دیده نشد ($P > 0.05$, OR=1/143) (جدول ۱-۲). این در حالی بود که فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت CC پلی مورفیسیم $C < 416G$ در بیماران به مراتب کمتر از گروه کنترل بود و تفاوت معنی داری را نشان می داد ($P < 0.001$). فراوانی آلل G ناحیه $C < 416G$ در بیماران شایع تر از گروه کنترل بود ($P < 0.018$, OR=3.652) (جدول ۱-۲). در نتیجه آلل C ممکن است به عنوان یک عامل حفاظتی در بیماری آسم نقش ایفا کند. فراوانی ژنوتیپ های پلی مورفیسیم $A < G1454$ در بیماران نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نمی داد ($P > 0.05$). همچنین فراوانی آلل A/G ناحیه $G > A1454$ در بیماران نیز تفاوتی با گروه کنترل نشان ندادند ($P > 0.05$, OR=1/143) (جدول ۱-۲). فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت CC

جدول ۱: مشخصات جمعیت مورد مطالعه

P-value	بیمار (۲۰۰ مورد)	کنترل (۲۰۰ مورد)	
۳۹۹/۰	89.14 ± 17.43	11.41 ± 9.40	سن (سال)
۳۶۲/۰	۶۶/۱۴۰	۱۲۰/۸۰	جنس (مرد/زن)
۰۰۱/۰	26.0 ± 23.6	0.5 ± 0.85	ائوزینوفیل (تعداد در میلی لیتر)
۶۸۷/۰	۲۶۶/۳۶	۲۶۱/۳۷	وضعیت مصرف سیگار (خیر/بلی)

* وجود اختلاف معنی دار

جدول ۲: مقایسه فراوانی ژنوتایپ در گروه کنترل و بیمار

پلی مورفیسیم	ژنوتایپ	کنترل (درصد)	بیمار (درصد)	χ^2	P-value	OR(95% CI)
$G > C1454$	GG GG+GC	۳۰ (۹/۳۱) ۱۰۰ (۰/۸۵)	۴۱ (۸/۲۸) ۹۷ (۱/۶۹)	۵۳/۶	$0.5 <$	$1.341 (0.88-1.584)$
$G > C416$	CC GG+GC	۳۴ (۹/۲۷) ۸۵ (۰/۷۲)	۱۵ (۵/۱۰) ۱۱۱ (۸/۸۷)	۸۴۹/۱۲	$0.01 >$	$(522/2-285/1) 80/1$
$A > G5529$	AA GG+AG	۲۷ (۴/۲۱) ۹۹ (۱/۸۰)	۳۹ (۰/۲۸) ۹۸ (۰/۷۳)	۴۵/۱	$0.5 <$	$(512/2-814/0) 430/1$
$A > G5529$	AA AG+GG	۱۱ (۱/۶) ۴۷ (۴/۲۴)	۴۵ (۳/۲۴) ۴۸ (۰/۲۷)	۴۳/۶	$0.01 >$	$(358/3-163/1) 976/1$
$C > T5365$	CC CT+TT	۱۸ (۲/۱۰) ۵۱ (۶/۲۸)	۳۹ (۱/۲۱) ۵۴ (۲/۲۹)	۸۶۰/۵	$0.01 >$	$(012/3-151/1) 567/2$

* وجود اختلاف معنی دار

جدول ۳: فرکانس آلل در گروه کنترل و بیمار

پلی مورفیسم	آلل	کنترل (درصد)	بیمار (درصد)	χ^2	P-value	OR(95% CI)
G>C ^{۱۴۵۴-}	G	۵۰ (۱/۳۹)	۵۶ (۲/۳۹)	۹۱۰/۱	۰/۵۰ <	۱/۴۳ (۰/۸۷-۴/۸۵)
G>C ^{۴۱۶-}	A	۱۵۹ (۱/۶۱)	۱۰۷ (۲/۴۶)	۴۸۳/۱۱	۰/۰۱ >	۱/۸۰ (۰/۲۸۵-۵۲۲/۲)
A>G ^{۳۳۲-}	C	۴۵ (۵/۴۰)	۴۵ (۵/۴۰)	۴۱/۱	۰/۵۰ <	۲۰/۱ (۰/۸۵۵-۶۹۸/۱)
-	G	۱۷۲ (۵/۶۷)	۱۸۱ (۵/۶۲)	۶۱۳/۸	۰/۱۲ >	۰/۳۲۵ (۰/۱۳۵-۷۷۹/۰)
A>G ^{۵۵۲۹-}	A	۱۱۸ (۹/۳۰)	۱۵۹ (۹/۳۶)	۱۲۹/۳	۰/۱۸ >	۳ (۰/۳۱-۳۳/۱)
C>T ^{۵۳۶۵-}	G	۱۴۵ (۲/۵۱)	۱۵۶ (۳/۴۹)			
	T					

* وجود اختلاف معنی دار

جدول ۴: ارتباط میان Egl در پلی مورفیسم ها در ژن TIM-1

پلی مورفیسم ژنی	ژنوتایپ/آلل	تعداد	IG-E	P-value
G>C ^{۱۴۵۴-}	G	۱۹۷	۸۸/۵۰۷±۳۴/۵۲۲	۰/۵۰ <
	A	۴۰	۸۰/۲۵۷±۸۷/۴۰۰	۰/۵۰ <
	AA	۹۹	۹/۱۶۲±۱/۷۱۱	۰/۵۰ <
	AG	۲۶	۴۰/۱۶۱±۸/۶۲۱	۰/۵۰ <
	GG	۷	۵۷۶۳/۱±۶/۵۳۲	۰/۵۰ <
	AA	۹۰	۳۱/۱۷۶±۰/۴۴۰	۰/۵۰ <
G>C ^{۴۱۶-}	AG+GG	۹۰	۲۷/۲۶۶±۱۹/۳۹۷	۰/۵۰ <
	G	۱۳۹	۷۲/۵۶۵±۹۷/۵۳۴	۶۵/۰ =
	C	۱۰۱	۹۴/۳۰۸±۰۶/۴۱۷	۰/۶۷/۰ =
	CC	۱۳۹	۶۵۱/۰±۷۲/۱	۰/۰۱ >
	GG	۶۹	۱۸/۲۷۷±۸۲/۴۳۳	۰/۶۳/۰ =
	GC	۴۰	۱۰/۸۳۶±۱۱/۶۳۳	۰/۶۰ <
A>G ^{۳۳۲-}	CC	۱۵	۶۵۱/۰±۷۲/۱	۰/۵۰ <
	GG+GC	۱۱۵	۸۲/۴۳۳±۰/۴۴۹	۰/۵۰ <
	A	۱۴۶	۱۷/۴۴۸±۵۸/۵۰۴	۰/۵۰ <
	G	۱۰۱	۸۶/۵۵۱±۲۷/۴۹۷	۰/۵۰ <
	AA	۳۵	۶۰/۴۵۲±۵۳/۵۷۰	۰/۵۰ <
	AG	۹	۳۴/۴۴۵±۱۱/۴۴۶	۰/۵۰ <
A>G ^{۵۵۲۹-}	GG	۱۴	۷۰/۸۹۷±۳۳/۷۳۰	۰/۵۰ <
	AA	۳۹	۶۷۲/۰ ± ۱۱۴/۱	۰/۵۰ <
	AG+GG	۸۹	۳۵/۴۹۷±۲۲/۴۶۴	۰/۵۰ <
	G	۱۴۶	۵۴/۴۶۵±۳۳/۴۸۰	۰/۵۰ <
	A	۱۱۸	۷۶/۵۰۶±۳۲/۵۳۹	۰/۵۰ <
	AA	۳۷	۴۶/۲۳۹±۱۷/۳۸۱	۰/۱۲/۰ >
C>T ^{۵۳۶۵-}	AG	۷۷	۶۱۰/۰ ± ۲۵۸/۱	۰/۵۰ <
	GG	۳۶	۱۷/۴۶۸±۵۸/۵۰۱	۰/۵۰ <
	AA	۱۶	۴۶/۲۳۹±۱۷/۳۸۱	۰/۱۲/۰ >
	AG+GG	۱۱۱	۰/۸۳/۱±۶۷۳/۱	۰/۵۰ <
	C	۸۸	۶۱۰/۰ ± ۲۵۸/۱	۰/۵۰ <
	T	۹۵	۶۷۲/۰ ± ۱۱۴/۱	۰/۵۰ <
	CC	۱۱۳	۵۸۱/۰ ± ۱۸۶/۲	۰/۰۱/۰ <
	CT	۵۹	۷۳۶/۰ ± ۱۱۰/۱	۰/۵۰ <
	TT	۴۷	۰/۸۳/۰ ± ۶۷۳/۱	۰/۵۰ <
	CC	۱۷	۶۵۱/۰±۷۲/۱	۰/۵۰ <
	CT+TT	۱۲۲	۰/۸۳/۱ ± ۶۷۳/۱	۰/۵۰ <

بحث

بیماری آسم از جمله بیماری های چند عاملی است که عوامل محیطی و ژنتیکی در آن در استعداد آمادگی ابتلا نقش دارند (۱۳). تأثیر گذارترین عامل خطر آفرین جهت ابتلا به آسم داشتن پیشینه بیماری

آتوپیک است. آسم در کسانی که دچار آگزما یا تب یونجه هستند به میزان بسیار بیشتری رخ می دهد (۱۴، ۱۵). TIM-1 یکی از خانواده های ژنی می باشد که به عنوان پذیرنده ای سلولی ویروس هپاتیت A در انسان و

ارتباط آن در دیگر جوامع، با خطر ابتلا به آسم است. بنابراین این یافته‌های متفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت‌های ژنتیکی، تاثیر عوامل محیطی، تفاوت در حجم نمونه‌ها دانست. همچنین یافته‌های ما در این پژوهش نشان‌دهنده نقش موثر پلی مورفیسیم‌های $T>5365C$ ، $G>5529A$ و $G<416C$ با افزایش میزان IgE در بیماران می‌باشد. که به نظر می‌رسد این افزایش از راه تاثیر بر تعادل $TH1/TH2$ به سمت $TH2$ و به دنبال آن تغییر پروفایل سایتوکائینی به سمت $TH2$ انجام می‌باشد. همچنین عدم ارتباط میان ژنوتیپ‌های $G>232A$ و $G<1454A$ با سطح IgE در افراد بیمار علاوه بر عدم تاثیرگذاری این پلی مورفیسیم ها بر روی میزان IgE، می‌توان ناشی از اثر عوامل محیطی و تاثیر کم ژن $TIM-1$ در تولید آنتی‌بادی یا واکنش‌های متقابل ژن‌های گوناگون عنوان کرد (۲۴،۲۵). با توجه داده‌های به دست آمده در این پژوهش و مشخص شدن تاثیرگذاری برخی از پلی مورفیسیم های ژن $TIM-1$ در استعداد ابتلا به آسم، انجام پژوهش‌های مشابه به دلیل تفاوت های ژنتیکی در قومیت‌های کشور مورد نیاز است تا بتوان با مد نظر قرار دادن شیوع و فراوانی این پلی مورفیسیم‌ها آنها را در درمان و تشخیص (به عنوان مارکرهای ژنتیکی) در افراد بیمار و دارای زمینه ابتلا به آسم در جمعیت ایران، مورد استفاده قرار داد.

نتیجه گیری

پژوهش حاضر نشان داد که رابطه معنی‌داری میان پلی مورفیسیم‌های $A>5529A$ ، $G>5529A$ و $G<416C$ -فرکانس ژن $TIM-1$ و سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی با بیماری آسم در جمعیت ایران وجود دارد.

میمون شناخته می‌شود (۱۷،۱۶). نتایج متناقضی در بررسی‌های پژوهشگران در مورد ارتباط میان مولکولی و آمادگی ابتلا به آسم وجود دارد (۹،۱۰،۱۱،۱۳،۱۸). بنابراین این پژوهش برای ارزیابی ارتباط پلی مورفیسیم‌های ژن $TIM-1$ در استعداد ابتلا به آسم در جمعیت ایران انجام شد. یافته‌های به دست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که آلل G ناحیه $-416C$ آلل C ناحیه $-5365C$ و آلل A ناحیه $-5529A$ پلی مورفیسیم‌های ژن $TIM-1$ در استعداد ابتلا به آسم نقش دارند. این یافته‌ها با یافته‌های پیشین در زمینه پلی مورفیسیم های ژن $TIM-1$ با استعداد ابتلا به آسم هم راستا است که نشان‌دهنده نقش احتمالی پلی مورفیسیم های این ژن با بیماری آسم در جمعیت‌های نزدیک از دیدگاه ژنتیکی (سفید پوست) می‌باشد. Shirzade و همکاران پلی مورفیسیم $G<416C$ را در ابتلا به آسم در جمعیت ایران موثر گزارش کردند (۱۹). همچنین Mete و همکاران نیز پلی مورفیسیم $G<416C$ را در استعداد ابتلا به آسم در جمعیت ترکیه را موثر گزارش کردند (۲۰). Cheon chae و همکاران در کشور کره پلی مورفیسیم $A>5529A$ ، $C>T5365C$ را در استعداد ابتلا به آسم موثر گزارش کردند (۲۱). از سوی دیگر در این پژوهش ارتباطی میان پلی مورفیسیم‌های ناحیه $G>232A$ و $C>1454G$ و بیماری آسم دیده نشد. یافت های Wu و همکاران در چین (۱۳) نیز عدم ارتباط میان پلی مورفیسیم $G>232A$ با بیماری آسم و همچنین Liu و همکاران نیز پلی مورفیسیم های ناحیه $G<1454A$ را در جمعیت چین در استعداد به ابتلا به آسم را تاثیرگذار قلمداد نکردند که با یافته‌های ما در این پژوهش همخوانی دارد (۲۲). اما در برخی از پژوهش‌های یافته‌های خلاف این پژوهش را گزارش کرده‌اند. برای نمونه Sinaha و همکاران در سال ۲۰۱۵ در بیماران به آسم در هندوستان پلی مورفیسیم های ناحیه $G<1454A$ را در ابتلا به آسم تاثیرگذار قلمداد کردند (۲۳). این یافته‌های متفاوت بیانگر ارتباط این پلی مورفیسیم ها در برخی از جوامع و عدم

References

- Virani Z, McGarry B, Hamm B. Are beta-blockers safe to use in patients with asthma or COPD? *ACGME* 2015; **6**(18): 2-12.
- Harada T, Yamasaki A, Fukushima T, Hashimoto K, Takata M, Kodani M, et al. Causes of death in patients with asthma and asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap syndrome. *International Journal of COPD* 2015; **10**: 595-602. doi: 10.2147/COPD.S77491
- Weinstein S F, Ford L B, Zhang B, Pirozzi G, Staudinger H, Robert R, et al. Effect Of Dupilumab On FEV1 And Severe Exacerbations In Patients With Uncontrolled Persistent Asthma: A Subgroup Analysis Defined According To Early-Onset And Late-Onset Asthma. *Atsjournals* 2016; **1**(193): 64-86. doi: 10.1183/1393003.congress-2017.pa3550
- Brightling C, Chaney P, Leigh R, O'Byrne P, Korn S, She D, et al. Efficacy and safety of tralokinumab in patients with severe uncontrolled asthma: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *The Lancet* 2015; **9**(3): 692-701. doi: 10.1016/s2213-2600(15)00197-6
- Hidarnia M, Itazari A, Mihrabs M, Pourpak Z, Moin M. The prevalence of asthma symptoms in a meta-analysis of country. *Pejouhesh Sbm* 2007; **3**(31): 217-225. [In Persian].
- Wu H, Romieu I, Shi M, Hancock D B, Li H, Sienra-Monge J J, et al. Evaluation of candidate genes in a genome-wide association study of childhood asthma in Mexicans. *J Allergy Clin Immunol* 2010; **125**: 321-327. doi: 10.1016/j.jaci.2009.09.007
- Sonar S S, Hsu Y M, Conrad M L, Majeau G R, Kilic A, Garber E, et al. Antagonism of TIM-1 blocks the development of disease in a humanized mouse model of allergic asthma. *J Clin Invest* 2010; **120**(8): 2767-2781. doi: 10.1172/jci39543
- Li Z, Ju Z, Frieri M. The T-cell immunoglobulin and mucin domain (Tim) gene family in asthma, allergy, and autoimmunity. *Allergy Asthma Proc* 2013; **34**(1): 21-26. doi: 10.2500/aap.2013.34.3646
- Sadri M, Ganjalikhani Khani hakimi M, Salehi R, Ghasemi R, Rustaqi S. Prevalence of TIM-3 Gene Polymorphisms in Patients with Asthma and its correlation with Serum Levels of Immunoglobulin-E

- of These Patients in Isfahan. *MUI* 2015; **314**(32): 2193-2201. [In Persian].
10. Lee J, Phong B, Egloff A M, Kane L P. TIM polymorphisms--genetics and function. *Genes Immun* 2011; **12**(8): 595-604. doi: 10.1038/gene.2011.75
11. Yeung M Y, McGrath M, Najafian N. The emerging role of the TIM molecules intransplantation. *Am J Transplant* 2011; **11**(10): 2012-2019. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03727.x
12. Curtiss M L, Gorman J V, Businga T R, Traver G, Singh M, Meyerholz D K, et al. Tim-1 regulates Th2 responses in an airway hypersensitivity model. *Eur J Immunol* 2012; **42**(3): 61-65. doi: 10.1002/eji.201141581
13. Wu Q, Hu L, Cai P, Li Y, Chen F, Kong L. Association analysis of TIM-1 -232G > A and 5383_5397 insertion/deletion polymorphisms with childhood asthma and total serum immunoglobulin E levels in middle China. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2009; **19**(2): 146-153. doi: 10.1159/000222677
14. Yeung M Y, McGrath M, Najafian N. The emerging role of the TIM molecules in transplantation. *Am J Transplant* 2011; **11**(10): 2012-2019. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03727.x
15. Ohta K, Ichinose M, Nagase H. Japanese guideline for adult asthma 2014. *Allergology* 2014; **63**(3): 293-333. doi: 10.2332/allergolint.14-rai-0766
16. Iwanaga T, Tohda Y. [Bronchial asthma: progress in diagnosis and treatments. Topics: I. Basic knowledge; 3. Asthma in the elderly]. *Nihon Naika Gakkai Zasshi. Japanese* 2013; **102**(6): 1343-1351. doi: 10.2169/naika.102.1343
17. Kaplan G, Totsuka A, Thompson P, Akatsuka T, Moritsugu Y, Feinstone S M. Identification of a surface glycoprotein on African green monkey kidney cells as a receptor for hepatitis A virus. *EMBO J* 1996; **15**(16): 82-96. doi: 10.1002/j.1460-2075.1996.tb00803.x
18. Soto-Campos JG, Plaza V, Soriano JB. Causes of death in asthma, COPD and non-respiratory hospitalized patients: a multicentric study. *BMC Pulm Med* 2013; **13**(20): 60-73. doi: 10.1186/1471-2466-13-73
19. Shirzade H, Meshkat R, Ganjalikhani-Hakemi M, Mosayebian A, Ghasemi R, Deress F, et al. Association analysis of -416G>C polymorphism of T-cell immunoglobulin and mucin domain-1 gene with asthma in Iran. *Wiley* 2015; **42**(4): 265-269. doi: 10.1111/iji.12209
20. Mete F, Ozkaya E, Aras S, Koksall V, Etlik O, Baris I. Association between gene polymorphisms in TIM1, TSLP, IL18R1 and childhood asthma in Turkish population. *PMC JOURNAL* 2014; **7**(4): 1071-1077. doi: 10.3109/02770903.2013.834503
21. Cheon Chae S, Hee Song J, Heo J, Lee Y, Kim J, Chung H. Molecular variations in the promoter and coding regions of human Tim-1 gene and their association in Koreans with asthma. *Human Immunology* 2003; **64**(12): 1177-1182. doi: 10.1016/j.humimm.2003.09.011
22. Liu Q, Shang L, Li J, Wang P, Li H, Wei C, Gong Y. A Functional Polymorphism m in the TIM-1 Gene Is Associated with Asthma in a Chinese Han Population. *Allergy Immunol* 2007; **144**: 197-202. doi: 10.1159/000103992
23. Sinaha S, singh J, Jindal S, lung K. Protective Association of TIM-1 Gene in a North Indian Population. *Indian J Med Sci* 2015; **193**(1): 31-38. doi: 10.1159/000103992
24. Rodriguez-Manzanet R, DeKruyff R, Kuchroo VK, Umetsu DT. The costimulatory role of TIM molecules. *Immunol Rev* 2009; **229**(1): 259-270. doi: 10.1111/j.1600-065x.2009.00772.x
25. Graves P E, Siroux V, Guerra S, Klimecki W T, Martinez F D. Association of atopy and eczema with polymorphisms in T-cell immunoglobulin domain and mucin domain-IL-2-inducible Tcell kinase gene cluster in chromosome 5 q 33. *Allergy Clin Immunol* 2005; **116**(3): 650-662. doi: 10.1016/j.jaci.2005.05.004

Original Article

The Intelligent Diagnosis of Speech Disorder: Using of Audio Signal Processing System

Iman Abaspor Kazerouni¹, Hasan Moslemi^{2*}, Fatemeh Hourali³

Electrical and Computer Engineering Department, Esfarayen University of Technology, Esfarayen, Iran.

*Corresponding author; E-mail: h.moslemi@esfarayen.ac.ir

Received: 5 October 2016 Accepted: 15 January 2017 First Published online: 13 December 2018
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):55-62

Abstract

Background: Voice is one aspect of speech. In this study, evaluation of the audio signal is used to determine the severity of the speech disorder and intelligibility. Until now, methods studied the quality of speech.

Methods: In consultation with the specialists a sentence with 5 words and 8 syllables has been determined to test 80 sample random persons were randomly selected among healthy people with different age groups and gender. Unhealthy people randomly selected from among the pupils centers. Among the different grading unhealthy and speech disorders were present. The cases were 50 healthy people and 30 patients with speech disorders. Using the model proposed in this paper, an intelligent system designed base on the principles of speech and image processing for detection speech disorder.

Conclusion: The proposed system has been tested on the different voice signals and statistical data have been extracted. The results represent a breakdown of people with an accuracy of more than 92% has been compared with the results of other reports, the result is very acceptable. The percentage of the proposed system error that leads to a repeat of the experiment is also about 7%.

Keywords: Speech Intelligibility, Voice Quality, Classification, Data Collection

How to cite this article: Abaspor Kazerouni I, Moslemi H, Hourali F. [The Intelligent Diagnosis of Speech Disorder: Using of Audio Signal Processing System]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):55-62. Persian.

مقاله پژوهشی

تشخیص هوشمند اختلال گفتاری با استفاده از سیستم پردازش سیگنال صوت

ایمان عباس‌پور کازرونی^{ID}، حسن مسلمی^{ID*}، فاطمه حورعلی^{ID}

دانشکده مهندسی برق و کامپیوتر، مجتمع آموزش عالی فنی و مهندسی اسفراین، اسفراین، ایران
*نویسنده مسئول؛ ایمیل: h.moslemi@esfarayen.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۵/۷/۱۴ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۶ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز: ۱۳۹۷ آذر و دی؛ ۴۰(۵):۵۵-۶۲

چکیده

زمینه: صوت یکی از جنبه‌های گفتار است. در این پژوهش، هدف بررسی و ارزیابی سیگنال صوتی جهت تعیین شدت اختلال گفتاری و همچنین وضوح گفتار است. تاکنون روش‌ها جهت ارزیابی گفتار به صورت کیفی بوده است. روش کار: با مشورت متخصصان گفتار درمانی یک جمله شامل ۵ کلمه و ۸ هجا تعیین شد و از ۸۰ نفر نمونه گیری شد که به صورت تصادفی در میان افراد سالم و از گروه‌های سنی و جنسیت مختلفی انتخاب شده‌اند. افراد ناسالم نیز از میان دانش‌آموزان مراکز استثنایی به صورت تصادفی انتخاب شده‌اند. از میان نمونه‌های انتخاب شده ۵۰ شخص سالم و ۳۰ نفر دارای اختلالات گفتاری هستند. در این مقاله، سیستم هوشمندی طراحی شده که بر اساس اصول پردازش گفتار و تصویر، می‌تواند افراد سالم را از افراد دارای اختلالات گفتاری تفکیک کند. یافته‌ها: از آنجا که تشخیص وجود اختلالات گفتاری، معمولاً تنها بر اساس تشخیص متخصصان گفتار درمانی و بر اساس اصول شنیداری انجام می‌شده است لذا با سیستم پیشنهادی طراحی شده در این مقاله، می‌توان عملیات تشخیص را به صورت هوشمند و با دقت بسیار بالا و بدون خطای انسانی انجام داد. نتیجه‌گیری: نتایج حاصل نشان‌دهنده تفکیک افراد با دقت بیش از ۹۲٪ بوده است که در مقایسه با نتایج سایر گزارشات نتیجه بسیار قابل قبولی می‌باشد. درصد خطای سیستم پیشنهادی که منجر به تکرار آزمایش شده است هم در حدود ۷٪ می‌باشد.

کلید واژه‌ها: وضوح گفتار، کیفیت صوت، دسته‌بندی، جمع‌آوری داده

نحوه استناد به این مقاله: عباس‌پور کازرونی، ا.، مسلمی، ح.، حورعلی، ف. تشخیص هوشمند اختلال گفتاری با استفاده از سیستم پردازش سیگنال صوت. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵):۵۵-۶۲

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

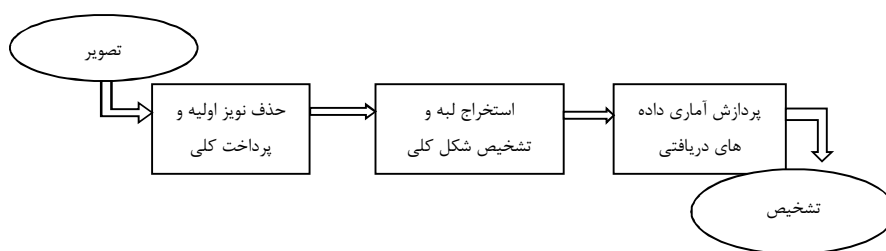
در فرآیند ارتباط کلامی صوت ابزاری است که نه تنها پیام را انتقال می دهد بلکه به معنای آن نیز می افزاید. احساس گوینده را بیان می کند و می تواند پیام را قوی تر به شنونده انتقال دهد. صوت علاوه بر آنکه بیانگر حالت های عاطفی، هیجانی و روانی گوینده است، می تواند حالت های جسمی گوینده به ویژه وضعیت حنجره را مشخص نماید. صوت نابهنجار می تواند به دلیل وجود انواع بیماری ها اعم از عضوی یا عملکردی باشد (۱). صوت نابهنجار به هرگونه انحراف در زیر و بمی بلندی کیفیت یا سایر ویژگی های پایه صوت اطلاق می شود که به طور پیوسته در برقراری ارتباط اختلال ایجاد کرده، توجه سایرین را جلب نماید و بر گوینده و شنونده تأثیر نامطلوب بگذارد (۲). در منابع مختلف وضوح گفتار تعاریف متفاوتی دارد، اما به طور کلی وضوح گفتار به وسعت سیگنال های آکوستیکی اشاره دارد که گوینده تولید کرده و شنونده به طور درست دریافت می کند (۳). به طور کلی تعامل ویژگی های زنجیری و زبر زنجیری وضوح گفتار را تحت تأثیر قرار می دهند. به این معنی که تولید، سرعت، روانی، کیفیت و شدت صوت عوامل موثر بر وضوح گفتار هستند (۴). سنجش وضوح گفتار کاربردهای زیادی دارد از جمله مبنای مقایسه به منظور استناد و بررسی تغییر در عملکرد گفتار در پاسخ به درمان، تعیین محدودیت عملکردی گفتار، سنجش شدت اختلال گفتاری و وضوح گفتار به عنوان معیار آسیب، ناتوانی یا معلولیت نیز به کار می رود. با این وجود معمولاً در گزارشات بالینی و پژوهش ها، مستند کردن سطوح وضوح گفتار رایج نیست (۵). ارزیابی وضوح گفتار باید شامل تک کلمه، تکرار جمله و گفتار خود انگیزه باشد. تخمین وضوح تک کلمه پیش بینی خوبی برای وضوح جمله یا گفتار پیوسته نخواهد بود (۶). در ادامه با توجه به پایه های ریاضی و منطقی مدلی ارائه می شود که بر اساس آن، با پردازش سیگنال های صوتی، صوت افراد دارای اختلالات صوتی از افراد سالم تفکیک می شود. در بخش ۲ ساختار کلی مدل پیشنهادی ارائه می شود و در آن عملگرهای منطقی مختصاتی که پایه اصلی مدل پیشنهادی است توضیح داده می شود. در بخش ۳، دو مرحله اصلی حذف نویز و استخراج لبه های سیگنال به صورت زیر مجموعه

روش بررسی ارائه می شود و در بخش ۴ نتایج مدل پیشنهادی شرح داده می شود.

روش کار

در این بخش الگوریتم و ساختار کلی استفاده شده در این مقاله مورد بررسی قرار می گیرد. در روش پیشنهادی، ابتدا نویزهای موجود در تصویر سیگنال صوتی دریافتی با استفاده از فیلترهای پیشنهادی حذف نویز، از بین می روند. باید توجه داشت که عمل حذف نویز در تحلیل تصاویر پزشکی بسیار حیاتی و مهم است به دلیل اینکه در صورتی که نویزهای موجود در یک تصویر به طور کامل حذف نشوند، عملیات و پردازش های بعدی علاوه بر تصویر هدف، بر روی نویزها نیز انجام می گیرند و بنابراین نتیجه ی به دست آمده از تحلیل و بررسی تصاویر نمی تواند مفید باشد. پس از انجام عملیات حذف نویز، مرحله ی تشخیص و جداسازی لبه های تصویر صورت می گیرد. در این مرحله، لبه ها و حاشیه های موجود در تصویر استخراج شده و مورد بررسی قرار می گیرد. در مدل پیشنهادی تمرکز بر روی وجود فاصله های ناهمگون در میان ادای واژه ها و همچنین شیب ادای واژه ها در هنگام صعود و نزول ادای آنهاست. بنابراین می توان تنها با استفاده از داده های موجود در لبه های تصاویر به تحلیل سیگنالها پرداخت. شکل ۱ مراحل و شمای کلی الگوریتم مدل پیشنهادی را به صورت فلوجارت تصویری نمایش می دهد.

عملگرهای منطقی مختصاتی (Coordinate Logic Operation)، یکی از ابزارهای مهم برای انجام عملیات هایشناسایی الگو و پردازش تصویر هستند. زمینه ها و کاربردهایی مانند کاهش و حذف نویز تصاویر باینری و سطح خاکستری (Gray Level)، پر کردن نواحی و اشیا موجود در تصاویر، شناسایی و تشخیص لبه ها (۷ و ۸) و همچنین کاربردهای تشخیص پزشکی از این دسته اند (۹ و ۱۰). یکی از روش های استفاده از این عملگرها ایجاد فیلترهای مختلف برای کاربردهای خاص است. فیلترهای منطقی مختصاتی (Coordinate Logic Filters) دسته ای از فیلترهای دیجیتالی غیر خطی اند که با استفاده از عملگرهای منطقی ساخته می شوند.



شکل (۱). شمای کلی الگوریتم مدل پیشنهادی.

بلندی عادی و حالت طبیعی و بدون تأکید بر روی واژه‌ای خاص و همچنین بدون مکث بیان کنند. تمامی شرکت‌کنندگان در آزمون فرم رضایت آگاهانه را مطالعه و تایید نموده‌اند و تمامی اصول مشخص شده در بیانیه هلسینکی برای انجام آزمون و انتشار نتایج رعایت شده است. نرم افزار مورد استفاده برای تحلیل داده ها و اجرای عملیات، نرم افزار MATLAB است که بر روی کامپیوتر با مشخصات Intel® Core™2Duo CPU T6400 @ 2.00GHz processor with 2GB of installed memory (RAM) under Microsoft Windows 7 operating نصب شده است و میکروفن Rode Video Micro Camera Microphone مورد استفاده از مدل با فرکانس پاسخ گویی ۱۰۰ تا ۲۰۰۰۰ هرتز و حساسیت ۳۳ دسی بل می‌باشد. در مرحله اول در روش پیشنهادی با استفاده از تبدیل سیگنالهای صوتی به سیگنالهای تصویری، تصویر مربوط به صوت هر کدام از نمونه ها به دست می‌آید. باید توجه داشت که پردازش تصاویر با دقت بالاتر و سرعت بالاتری نسبت به پردازش صوت انجام می‌شود. برای پردازش تصاویر در ابتدا باید نویز مربوط به انتقال از صوت به تصویر را حذف کرد. این نویزهای موجود در تصاویر با استفاده از متغیرهای مختلف قابل جداسازی هستند. فیلتر مورد استفاده در روش پیشنهادی، فیلتر گاوسی است. از آنجا که صوت اشخاص سالم را به صورت نسبی تابعی از قانون گاوس هستند بنابراین می‌توان با اعمال یک فیلتر گاوسی بر روی تصاویر، حاشیه‌ها و نقاط اضافی را در صورت افراد در تصاویر حذف کرد. نویزهای موجود در تصاویر معمولاً ناشی از نویز مربوط به محیط در هنگام تهیه پایگاه داده می‌باشد. همچنین در هنگام ضبط صدا میکروفن نیز دارای نویزی است که در این مرحله تمام این نویزها به صورت قابل قبولی حذف می‌شوند. با استفاده از فیلتر گاوسی می‌توان نویز موجود در تصاویر را تا حدود قابل قبولی حذف کرد. از آنجا که این فیلتر از دو تابع میانگین و واریانس برای حذف نویز استفاده می‌کند بنابراین می‌توان با تکیه بر آن تا حدود زیادی به هدف حذف کامل نویزهای تصویر نزدیک شد. معادله مربوط به فیلتر گاوسی در زیر آمده است:

$$(۳) G(x) = \exp\left(\frac{-0.5(x - \mu)^2}{\sigma^2}\right)$$

که در این معادله μ میانگین و σ واریانس داده ها است. این فیلتر به طور قابل قبولی کارایی لازم برای عملیات حذف نویز را دارد. با استفاده از فیلترهای منطقی مختصاتی می‌توان شناسایی الگوی لبه‌ها و استخراج و آشکارسازی لبه‌های تصاویر را انجام داد. مدل پیشنهادی برای انجام این کار به صورت فیلتری شامل عملگر منطقی مختصاتی XOR ارایه می‌شود. در این مدل با استفاده از تکنیک پهن شدگی (Dilation) بر روی تصویر، پیکسل‌های تشکیل دهنده لبه‌ها شناسایی و استخراج می‌شوند. این فیلتر با استفاده از تحلیل پیکسل‌های موجود در تصویر و به کمک

عملکرد این فیلترها برای سیگنال‌ها و تصاویر باینری همانند فیلترهای مورفولوژیکال (Morphological) ولی برای تصاویر سطح خاکستری سریع تر عمل می‌کنند (۱۱). عملگرهای منطقی مختصاتی مورد استفاده برای فیلترها، AND، OR، XOR و ترکیبات آن‌ها هستند. اساس کار مدل های پیشنهادی ایجاد فیلترهای منطقی مختصاتی است. فیلترها بر اساس روابط و خواص حاکم بر عملگرهای منطقی ساخته می‌شوند. خواص جبر بولی حاکم بر روابط دیجیتالی برای این عملگرها نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. به عنوان نمونه با فرض دو مقدار ۱۰۰۱۰۱۱ و ۱۰۱۰۱۰۱۰ نتیجه‌ی حاصل از عمل AND مختصاتی آن‌ها برابر با ۱۰۰۰۰۰۱۰ خواهد بود. بنابراین عملیات منطقی مختصاتی برای دو عدد دهدهی W و V در سیستم باینری به صورت زیر تعریف می‌شود (۱۲):

$$(۱) X = V \bullet W$$

که در آن $\bullet$ می‌تواند عملگر منطقی مختصاتی NOT، OR، AND، XOR یا ترکیبی از آن‌ها باشد. برای تصویر مفروض I با تعداد $M \times N$ پیکسل که در آن N و M تعداد سطرها و ستون‌های تصویر است، درایه های ماتریس تصویر I به صورت زیر تعریف می‌شوند (۱۱):

$$(۲) S(i,j) = \sum_{p=0}^{n-1} 2^p (S_p(i,j)) \quad i=1,2,...,M \quad j=1,2,...,N$$

یافته ها

در این مطالعه ۸۰ نفر از افراد سالم و دارای اختلالات گفتاری، شامل ۳۲ مرد و ۱۸ زن سالم در محدوده سنی ۱۸ تا ۲۵ سال، با میانگین سنی ۲۳/۱۹ سال و ۱۲ مرد و ۱۸ زن دارای اختلالات گفتاری در محدوده سنی ۸ تا ۱۵ سال، با میانگین سنی ۱۲/۲۴ سال بررسی شدند. تمام افراد منتخب در حال تحصیل و مجرد بوده‌اند. در مطالعه حاضر نمونه‌ها به دلیل انتخاب از دوره تحصیلی مختلف (دانشگاه و مدارس) همسان سازی نشده‌اند که این مورد از جمله محدودیت‌های موجود در مطالعه حاضر است. روش نمونه‌گیری و انتخاب افراد به صورت نمونه‌گیری منظم (سیستماتیک) انجام شده است. نمونه سالم از دانشجویان دانشگاه حکیم سبزواری انتخاب شده‌اند و نمونه‌هایی که دچار اختلال گفتاری بودند از مراکز گفتار درمانی و مدارس استثنایی انتخاب شدند. با مشورت با صاحب نظران گفتار درمانگر (آسیب شناس گفتار و زبان) جمله‌ای انتخاب شد که محاوره ای باشد. این جمله شامل ۵ کلمه و ۸ هجا بود. آزمودنی‌ها در حین نمونه‌گیری در وضعیت نشسته و کاملاً صاف قرار می‌گرفتند و فاصله آزمودنی تا میکروفن ۳۰ سانتی‌متر بود. قبل از نمونه‌گیری از آزمودنی‌ها خواسته شد جمله‌ها را با

تصویر الف شکل ۲ مربوط به سیگنالهای یک شخص سالم است؛ همانطور که در این تصویر مشخص است فاصله خاصی بین ادای واژه ها وجود ندارد و فراز و فرودها به صورت پیوسته و مشخص اتفاق می افتد. در تصویر ب شکل تبدیل شده این سیگنال به صورت خاکستری (Gray) مشاهده می شود. دلیل خاکستری کردن تصویر اصلی این است که پردازش بر روی تصاویر خاکستری با سرعت بیشتری انجام می شود. پس از این مرحله عملیات حذف نویز با استفاده از فیلتر پیشنهادی بر روی تصویر انجام می شود و نتیجه حاصل در شکل ج قابل مشاهده است. همانطور که در این شکل مشخص است داده های اضافی تا حدود زیادی حذف شده اند و در نهایت عملیات تشخیص لبه بر روی تصویر اعمال می شود و تصویر حاصل بیانگر تمام اطلاعات مفید لازم برای پردازش داده ها می باشد و داده های اضافی به طور کامل حذف گردیده اند تا عملیات پردازش با سرعت و دقت بیشتری انجام شود.

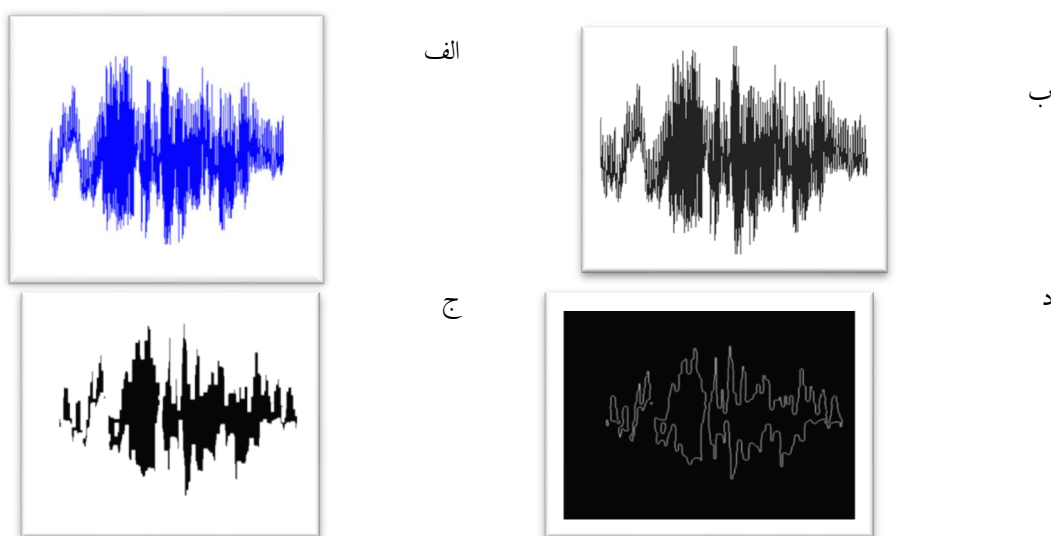
خواص عملگرهای منطقی به سادگی و با سرعت بالا آشکارسازی لبه ها را انجام می دهد. مدل فیلتر پیشنهادی به صورت زیر بیان می شود:

$$(۴) \text{Edge}(I_{\gamma}(i-1,j) \bullet I_{\gamma}(i+1,j) \bullet I_{\gamma}(i,j+1) \bullet I_{\gamma}(i,j-1))$$

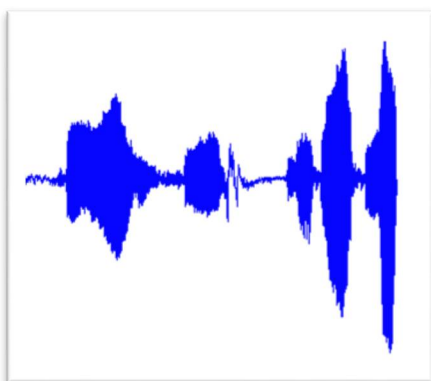
در معادله (۴)، $\bullet$ بیانگر عملگر منطقی مختصاتی XOR است. پس از این مرحله، داده های به دست آمده مورد پردازش آماری قرار می گیرند. از آنجا که بسیاری از داده های اضافی سیگنال اصلی در مراحل قبلی حذف گردیده اند بنابراین در این مرحله تنها کافیت که دو مشخصه ی اصلی داده ها یعنی میانگین و واریانس مورد بررسی و مقایسه قرار گیرند. باید توجه داشت که در صورتی که مراحل پردازشی قبل انجام نمی گرفتند، در این مرحله، این دو داده آماری نمی توانستند به تنهایی معیار مناسبی برای تشخیص اختلالات گفتاری باشند. در زیر روابط مربوط به میانگین و واریانس داده ها آورده شده است:

$$(۵) \text{Mean } \mu = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N P_j$$

$$(۶) \text{Variance } \sigma^2 = \frac{1}{N-1} \sum_{j=1}^N (p_j - \mu)^2$$



شکل ۲: تصاویر مربوط به سیگنال صوتی فرد سالم. (الف): تصویر اصلی. (ب): تبدیل تصویر اصلی به تصویر خاکستری (ج): پس از انجام حذف نویز (د): تصویر نهایی پس از انجام عملیات جداسازی و استخراج لبه ها. در شکل (۳) تصاویر مربوط به شخصی با اختلال گفتاری دیده می شود. همانطور که در قسمت الف مشاهده می شود در سیگنالهای مربوط به این شخص فاصله مشهودی دیده می شود و فراز و فرودها بر خلاف شکل ۲ به صورت پیوسته اتفاق نمی افتد بنابراین داده های آماری در این تصویر متفاوت از شخص سالم است. تمام مراحل پردازش که برای شکل ۲ بیان شد برای این سیگنال هم تکرار می شود.



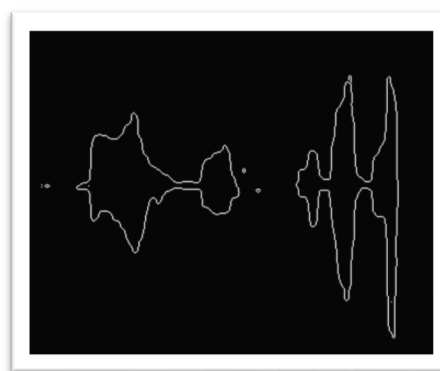
(الف)



(ب)



(ج)



(د)

شکل ۳: تصاویر مربوط به سیگنال صوتی فرد دارای اختلال گفتاری. (الف): تصویر اصلی. (ب): تبدیل تصویر اصلی به تصویر خاکستری (ج): پس از انجام حذف نویز (د): تصویر نهایی پس از انجام عملیات جداسازی و استخراج لبه‌ها.

در نهایت با استفاده از روش پیشنهادی و انجام تست بر روی افراد مختلف، اطلاعات آماری مربوط به تست ۷۵ مورد سالم و دارای اختلال به صورت زیر نتیجه شده است:

$$\begin{aligned} \text{True positive} &= \text{Sensitivity} = \frac{29}{30} = 0.96 \\ \text{True negative} &= \text{Specificity} = \frac{46}{50} = 0.92 = 92\% \\ \text{False positive} &= \frac{12}{80} = 0.15 = 15\% \\ \text{False negative} &= 0.4 \end{aligned}$$

کمیت‌های فوق در ادبیات رشته آمار و اپیدمیولوژی به ترتیب حساسیت یا مثبت حقیقی، ویژگی یا منفی حقیقی، مثبت کاذب و منفی کاذب ترجمه می‌شوند. از آنجا که منفی کاذب در پژوهش حاضر بسیار پایین می‌باشد نشان‌دهنده این موضوع است که کمتر شخص دارای اختلالی به اشتباه سالم تشخیص داده شده است و به دلیل اهمیت این موضوع می‌توان انتظار داشت که افراد بیمار توسط سیستم شناسایی شوند.

جدول ۱، نتایج مربوط به انجام مدل پیشنهادی بر روی ۸۰ نفر از افراد سالم و دارای اختلالات گفتاری را نشان می‌دهد. همان‌طور که در این جدول مشخص است محدوده آماری افراد سالم و دارای اختلالات گفتاری اختلاف مشهودی دارند و بنابراین می‌توان با استفاده از مدل پیشنهادی به تفکیک افراد پرداخت. باید توجه داشت که در صورتی که محدوده‌های نزدیک به یکدیگر باشند، آزمایش تکرار می‌شود تا از نتایج اطمینان حاصل شود. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس انجام شد.

جدول ۱: نتایج آماری اعمال سیستم هوشمند پیشنهادی بر روی افراد سالم و دارای اختلال گفتاری.			
پردازش آماری	محدوده افراد سالم	محدوده افراد دارای اختلال	موارد تکرار آزمایش
میانگین	$\mu > 2100$	$\mu < 2000$	$\mu < 2100$
واریانس	$\sigma > 50$	$\sigma < 42$	$\sigma < 50$
تعداد افراد	۴۶	۲۹	۱۲
درصد صحت تشخیص	۹۲٪	۹۶.۶۶٪	۱۵٪

بحث

صوت یکی از جنبه‌های گفتار است که در روند برقراری ارتباط نقش مهمی ایفا می‌کند و بخشی از مراجعه‌کنندگان به کلینیک‌های گفتار درمانی را مبتلایان به اختلال صوت تشکیل می‌دهند که آسیب شناس گفتار و زبان باید با بررسی ابعاد مختلف مشکل برنامه درمانی مناسب را برای آن‌ها طراحی کند با توجه به ماهیت پیچیده و چند بعدی صوت فرآیند ارزیابی اختلالات صوت باید به گونه‌ای باشد که ابعاد مختلف آن را در برگیرد (۱۳). اختلالات گفتاری می‌تواند ناشی از اختلالات صوتی باشد که اختلال صوتی نیز به دلیل وجود انواع بیماری‌ها اعم از عضوی یا عملکردی است. تاکنون درمانگران برای ارزیابی وضوح گفتار و تشخیص اختلال گفتاری متکی به روش‌های کیفی بوده‌اند. در صورتی که ارزیابی مبتنی بر داده‌های حاصله از اندازه‌گیری ابزاری می‌تواند معیار دقیق و مشخصی را در اختیار درمانگر و بیمار قرار دهد و تاکنون روش‌ها و تکالیف گفتاری متفاوتی برای ارزیابی گفتار مطرح شده است که این روش‌ها برای پایه آزمون است. فرد چندین جمله را تکرار کرده و سپس صدای ضبط شده وی توسط خبره و گفتار درمان مورد بررسی قرار می‌گیرد که این نیز در نهایت به صورت کیفی ارزیابی می‌شود (۱۴). Tian و همکاران (۱۵) تکنیک هوشمندی برای افزایش کیفیت سیگنال‌های صوتی در ارایه داده‌اند که الگوریتم کاهش نویز برای دریافت بهتر سیگنال می‌باشد که این الگوریتم‌ها می‌تواند در جهت بهبود تحلیل سیگنال صوتی مفید باشند اما به تنهایی نمی‌تواند سیستمی جامع برای تشخیص اختلال گفتاری باشد. Hu and Raj (۱۶) نیز در زمینه تحلیل هوشمند سیگنال‌های صوتی، مدلی برای تشخیص گفتار از روی حرکت لب‌ها ارایه دادند که این مدل با استفاده از دوربین پردازش لرزش لب‌ها را بررسی می‌کند ولی به دلیل اینکه در افراد دارای اختلال گفتاری، ممکن است سیگنال صوتی بدون حرکت لب‌ها ارسال شود این مدل نمی‌تواند به طور صحیح افراد دارای اختلالات گفتاری را شناسایی کند.

سرعت تشخیص در روش ارایه شده بسیار بالاتر از روش‌های پیشنهادی در مقالات معتبر علمی و نیز روش تشخیص انسانی توسط فرد است. ارتباط میان میزان تشخیص انسانی با تشخیص توسط سیستم هوشمند ($p = 0/001$) معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری

اختلال گفتاری یکی از شایع‌ترین اختلالات ظاهری در افراد جامعه است. از آنجا که تشخیص وجود اختلالات گفتاری، معمولاً تنها بر اساس تشخیص متخصصان گفتار درمانی و بر اساس اصول شنیداری انجام می‌شود، لذا احتمال بروز خطای انسانی در تشخیص افراد بسیار بالاست. در این پژوهش مدلی ارایه شده است که به صورت هوشمند قادر به تفکیک افراد سالم و افراد دارای اختلال گفتاری استیک جمله شامل ۵ کلمه و ۸ هجا تعیین شد و از ۸۰ نفر نمونه‌گیری شد که به صورت تصادفی در میان افراد سالم و از گروه‌های سنی و جنسیت مختلفی انتخاب شده‌اند. سیستم پیشنهادی بر روی سیگنال‌های صوتی افراد مختلف تست شد و داده‌های آماری استخراج شدند. نتایج حاصل نشان دهنده تفکیک افراد با دقت بیش از ۹۲٪ بوده است که در مقایسه با نتایج سایر گزارشات نتیجه بسیار قابل قبولی می‌باشد. در آینده و در راستای این پژوهش می‌توان با تحلیل داده‌های آماری به تفکیک درجه‌بندی‌های مختلف اختلال گفتاری افراد نیز پرداخت.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله شامل ملاحظات اخلاقی نمی‌شود.

منابع مالی

این مقاله منابع مالی ندارد.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

اع، ح م و همکاران، طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشته‌اند و همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده‌اند.

References

- Colton RH, Casper JK, Leonard R. *Understanding voice problem: a physiological perspective for diagnosis and treatment*. 3rd ed. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 2006; PP: 341-375.
- Nicolosi L, Harryman E, Keresheck J. *Terminology of communication disorders speech-language-hearing*. 5th ed. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 2004; PP: 145-176.
- Weismer G. *Motor Speech Disorders*. 1st ed. San Diego, Plural Pub, 2007; PP: 34-49.
- Brookshire RH. *Introduction to Neurogenic Communication Disorders*. 6th ed. St Louis, Mosby-Year Book, Inc, 2003; PP: 54-86.
- Love RJ. *Childhood motor speech disability*. 2nd ed. Boston, Allyn and Bacon, 2000; PP: 123-142.

6. Pascoe M, Stackhouse J, Wells B. *Persisting speech difficulties in children*. 3rd ed. Canada, John Wiley, 2006; **8**(3): 231-244.
7. Danahy E, Panetta K, Agaian S. Coordinate logic transforms and their use in the detection of edges within binary and grayscale images. *IEEE International Conference on Image Processing* 2007; **3**: 53-56. doi: 10.1109/icip.2007.4379244
8. Tsirikolias K, Mertzios B. Logic filters in image processing. *Proceedings of the International Conference on Digital Signal Processing* 1991; 285-287.
9. Papadopoulos A, Fotiadis D, Costaridou L. Improvement of micro calcification cluster detection in mammography utilizing image enhancement techniques. *Computers in Biology and Medicine* 2008; **38**(10): 1045-1055. doi: 10.1016/j.combiomed.2008.07.006
10. Cheng H, Xiaopeng C, Xiaowei C, Liming H, Xueling L. Computer-aided detection and classification of micro calcifications in mammograms: a survey. *Pattern Recognition* 2003; **36**(12): 2967-2991. doi: 10.1016/S0031-3203(03)00192-4
11. Mertzios B, Tsirikolias K. Applications of coordinate logic filters in image analysis and pattern recognition. *The 2nd International Symposium on Image and Signal Processing and Analysis* 2001; 125-130.
12. Tsirilolias K, Mertzios B. Edge extraction and enhancement using coordinate logic filters. *Proceedings of the International Conference on Image Processing. Theory and Applications* 1993; 251-254. doi: 10.1109/icdsp.1997.62806
13. Green M, Mathieson L. *The voice and its disorders*. London, Whurr Pub, 1991; PP: 319-332.
14. Heydari S, Torabi Nezhad F, Agha Rasouli Z, Hoseyni F. Development of speech intelligibility measurement test for 3 to 5 years old normal children. *Audiol* 2011; **20**(1): 47-53. (Persian).
15. Tian Y, Li S, Lv H, Wang J, Jing X. Smart radar sensor for speech detection and enhancement. *Sensors and Actuators A: Physical* 2013; **191**: 99-104.
16. Hu R, Raj B. A robust voice activity detector using an acoustic Doppler radar. *IEEE Workshop on Automatic Speech Recognition and Understanding* 2005; 319-324. doi: 10.1109/ASRU.2005.1566497

Original Article

Response HSP70 with ingestion supplementation glucose in non-athlete men after six-week exhausting endurance-intermittent training

Ghasemi Kahrizsangi Ali*, Akbarpour Mohsen

Department of Sport Sciences, School of Humanities, University of Qom, Iran.

*Corresponding author; E-mail: a.gh2535@yahoo.com

Received: 31 January 2017 Accepted: 18 June 2017 First Published online: 13 December 2018

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):63-71

Abstract

Background: The aim of the present study was to investigate the effect of glucose supplementation on response HSP70 serum in non-athlete men after six-week exhausting endurance-intermittent training.

Methods: The 18 non-athlete healthy men were randomly divided into three groups including: glucose supplementation training group (n=6) and a control group (n=6). The blood samples were collected from antecubital venous at the onset of training protocol period and after first and final training session immediately. Serum HSP70 concentration were determined by ELISA technique.

Results: Serum HSP70 values in the second posttest in three groups was $1/1 \pm 8/3$, $2/1 \pm 9/3$ and $2/1 \pm 8/2$ ng/ml respectively. The results Analysis of variance with repeated measures test showed the significant difference between supplement glucose-train group and placebo-train with control group ($P < 0.01$). Also, the results showed significant difference in glucose-train between all three phases ($P < 0.01$). Bonferroni post-hoc test showed the significant difference between pretest with post(1) and post(2) and post(1) with post(2) phase ($P < 0.05$). Also, showed significant in train-placebo between all three phases ($P < 0.05$). Bonferroni post-hoc test showed the significant difference between pretest with post(1) and post(1) with post(2) phase ($P < 0.05$).

Conclusion: Exhaustive exercise on glucose utilization adaptation with the response of HSP70 more effective than exercise alone is exhausting endurance-intermittent exhausting endurance-intermittent training with consumption glucose causes adaptation in response HSP70 than exhausting endurance-intermittent training.

Keywords: Glycogen Depletion Training, Glucose Supplementation, HSP70, Non-Athlete Men

How to cite this article: Ghasemi Kahrizsangi A, Akbarpour M. [Response HSP70 with ingestion supplementation glucose in non-athlete men after six-week exhausting endurance-intermittent training]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):63-71. Persian.

مقاله پژوهشی

تاثیر مصرف مکمل گلوکز و شش هفته تمرین بلندمدت وامانده ساز بر پاسخ پروتئین شوک حرارتی ۷۰ در مردان غیرورزشکار

علی قاسمی کهریزسنگی^{*}، محسن اکبرپور

گروه علوم ورزشی، دانشگاه قم، قم، ایران
^{*}نویسنده مسئول؛ ایمیل: a.gh2535@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۲ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۲۸ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ آذر و دی؛ ۴۰(۵): ۶۳-۷۱

چکیده

زمینه: هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین بلندمدت وامانده ساز همراه با مصرف گلوکز بر پاسخ HSP70 مردان غیرورزشکار بود. **روش کار:** تعداد ۱۸ نفر مرد سالم (میانگین سن: 21.5 ± 2.5 سال، میانگین وزن: 73.1 ± 9.5 کیلوگرم) که فعالیت بدنی منظم نداشتند انتخاب و به طور تصادفی در سه گروه مورد مطالعه قرار گرفتند: گروه گلوکز - تمرین ($n = 6$)، گروه تمرین - دارونما ($n = 6$) و گروه کنترل ($n = 6$). در سه مرحله قبل از شروع دوره تمرینی (پیش آزمون)، بلافاصله پس از اتمام اولین جلسه تمرینی (پس آزمون اول) و بلافاصله پس از اتمام آخرین جلسه تمرینی پس از شش هفته (پس آزمون دوم) نمونه های خونی از سیه رگ زند اعلی جهت اندازه گیری متغیرهای تحقیق جمع آوری شد. غلظت HSP70 سرم بوسیله تکنیک ELISA اندازه گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده های تحقیق از آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر جهت معنی داری و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معنی داری نیز $\alpha = 0.05$ استفاده شد.

یافته ها: مقادیر HSP70 سرم در مرحله پس آزمون دوم در سه گروه به ترتیب 3.8 ± 1.1 ، 3.9 ± 1.2 و 2.8 ± 1.1 ng/ml بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیریهای مکرر تفاوت معنی داری در گروه گلوکز - تمرین بین هر سه مرحله را نشان داد ($P < 0.01$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی حاکی از تفاوت معنی داری بین مرحله پیش آزمون با پس آزمون اول و پس آزمون دوم و همچنین بین پس آزمون اول با پس آزمون دوم بود ($P < 0.05$). نتایج آزمون اندازه گیریهای مکرر تفاوت معنی داری در گروه تمرین - دارونما بین هر سه مرحله را نشان داد ($P < 0.05$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی در گروه تمرین - دارونما، حاکی از تفاوت معنی داری بین مرحله پیش آزمون با پس آزمون اول و بین پس آزمون اول با پس آزمون دوم بود ($P < 0.05$).

نتیجه گیری: تمرین وامانده ساز به همراه مصرف گلوکز بر سازگاری در پاسخ عامل ضد استرسی HSP70، اثربخش تر از تمرین وامانده ساز به تنهایی می باشد.

کلید واژه ها: تمرین تخلیه گلیکوژنی، مکمل گلوکز، مردان غیرورزشکار

نحوه استناد به این مقاله: قاسمی کهریزسنگی ع، اکبرپور م. تاثیر مصرف مکمل گلوکز و شش هفته تمرین بلند مدت وامانده ساز بر پاسخ پروتئین شوک حرارتی ۷۰ در مردان غیرورزشکار. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۶۳-۷۱

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپی رایت کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

در هنگام اجرای فعالیتهای ورزشی برجسته ترین تغییر زیستی که رخ می دهد افزایش میزان متابولیسم و به دنبال آن تجمع مواد زائد متابولیکی است، که باعث تخریب و آسیب سلولی - به ویژه در سلولهای عضلانی - می شوند و ممکن است به عملکرد ورزشی ورزشکار لطمه زده باعث افت اجرای ورزشی او شود. از جمله موادی که می توانند اثر مواد زائد متابولیکی را حین یک جلسه تمرینی خستگی کرده یا تا حدی با آن مقابله کنند، دسته ای از پروتئین ها هستند که تحت عنوان پروتئین های استرسی (Stress proteins) شناخته شده اند (۱، ۲). یک دسته مهم از این پروتئین ها، پروتئین های شوک حرارتی (Heat Shock Proteins) می باشد که نقش حیاتی در نگهداری هومئوستاز سلولی و محافظت سلولی در شرایط استرسی زای حاد و مزمن ایفا می کنند (۱). این پروتئین ها بر اساس وزن مولکولی و عملکرد به HSPs ۴۰، ۶۰، ۷۰، ۹۰ و ۱۱۰ کیلودالتونی دسته بندی می شوند و در پاسخ به آسیب بافتی و در شرایط التهاب سلولی جهت محافظت از سلول به بیرون از سلول حرکت می کنند (۱، ۲). از میان خانواده پروتئین های شوک حرارتی، HSP70 یکی از مهمترین اعضا این خانواده می باشد و با زنجیره سنگین ایمونوگلوبین و کمپلکس های در حال همانند سازی اسید دی اکسی ریبونوکلوئیک (DNA) ترکیب می شود و در نگهداری ساختمان آنها یا تجزیه آنها پس از استفاده شرکت می کند. این پروتئین میل ترکیبی شدیدی به آدنوزین تری فسفات (ATP) دارد و احتمالاً با استفاده از انرژی آزاد شده از تجزیه آدنوزین تری فسفات دچار تغییرات ساختمانی می شود (۲). مطالعات متعددی نظیر استرسهای مکانیکی، تخریب پروتئینی، کاهش دسترسی به گلوکز و رادیکالهای آزاد را در تغییرات سطح تولید پروتئین های شوک حرارتی از جمله HSP70 موثر دانسته اند (۲-۴). برخی تحقیقات انجام شده در این خصوص نشان داده است که ورزش ممکن است یک محرک قوی برای تولید HSPs باشد (۳، ۴). پائولسن و همکاران با بررسی اثر سه نوع برنامه تمرینی، درونگرا، برونگرا و برونگرای مکرر دریافتند که بیشترین افزایش HSP70 در برنامه تمرینی برونگرای مکرر که بالاترین آسیب عضلانی ایجاد شده بود رخ داد (۵). تحقیقات نشان می دهد شدت تمرین عامل مهمی در میزان تولید HSP70 است (۶-۸). در تحقیقی نشان داده شد که در حین تمرین طولانی و امانده ساز بیان ژن HSP70 افزایش می یابد (۶). همچنین تحقیقات افزایش میزان HSP60, ۷۲ HSP را در اثر اجرای فعالیت ورزشی بلندمدت و تخلیه ذخایر گلیکوژنی گزارش کرده اند (۹-۱۱). لذا به نظر می رسد یکی از عوامل موثر در افزایش HSP70 در حین تمرینات طولانی مدت می تواند کاهش در دسترس بودن گلوکز و تخلیه گلیکوژن باشد. نتایج تحقیقات مختلف افزایش میزان HSP70 پس از یک وهله تمرین با الگوها و شدتهای مختلف را

نشان داده است (۸، ۱۱، ۱۲). اما سازگاری بلند مدت در مطالعات روی آزمودنی های حیوانی و انسانی، کاهش HSP70 و HSP72 را نشان داده است (۱۳-۱۵). همچنین یکی از انواع تمرینات بلندمدت استقامتی که منجر به کاهش مقادیر قند خون به مقادیر بحرانی می شود تمرینات تخلیه گلیکوژنی است، که این تمرینات می تواند بر فاکتورهای مختلفی از جمله عوامل رشدی، اکسایشی و استرسی و متعاقب آن عوامل ضد استرسی تأثیر بگذارد (۹، ۱۶-۱۸). در تحقیقی میزان استراحتی HSP72 در آزمودنی های سالم غیرورزشکار پس از چهار هفته تمرین استقامتی و امانده ساز که باعث تخلیه گلیکوژنی می شد با مصرف مکمل های گلوتامینی و گلوکزی با کاهش همراه بود (۱۴) اما اثر یا اثرات پاسخ در سازگاری تمرین تخلیه گلیکوژنی سنجیده نشده است. بنابراین با توجه به موارد ذکر شده و عدم بررسی پاسخ HSP70 پس از چندین هفته تمرین بلند مدت استقامتی که باعث تخلیه یا کاهش موجودیت منابع گلیکوژنی شود و جهت بررسی اثر مصرف مکمل گلوکز و تأثیر پاسخ در سازگاری ناشی از تمرین بلند مدت و امانده ساز که منجر به کاهش گلوکز خون به مقادیر بحرانی می شود، هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر پاسخ مصرف مکمل گلوکز پس از شش هفته تمرین تخلیه گلیکوژنی بر پاسخ HSP70 مردان سالم غیرورزشکار بود.

روش کار

تحقیق حاضر از نوع نیمه تجربی با استفاده از گروه مکمل و کنترل می باشد. جامعه آماری تحقیق را دانشجویان پرسی که واحد تربیت بدنی عمومی ۱ را در دانشگاه قم اخذ نموده بودند، تشکیل می دادند که تعداد ۱۸ نفر با توجه به محدودیتها و امکانات تیم تحقیقی، از جامعه آماری فوق به صورت داوطلبانه به عنوان نمونه تحقیق انتخاب شدند. عدم سابقه ورزشی منظم و یا عدم فعالیت بدنی منظم آزمودنی ها از طریق پرسشنامه rPar-Q (Revised physical activity readiness questionnaire) کنترل شد (۱۹). وضعیت سلامت، عدم مصرف دخانیات، عدم مصرف مکمل ها و داروها طی شش ماه قبل، داشتن شرایط لازم برای شرکت در تحقیق و سوابق پزشکی آزمودنیها توسط پرسشنامه سلامتی مورد ارزیابی قرارگرفت (۱۹). وضعیت تغذیه ای آزمودنی ها نیز بوسیله پرسشنامه بررسی وضعیت تغذیه ای یادآمد ۲۴ ساعته کنترل شد (۱۹). سپس آزمودنی ها به صورت تصادفی به سه گروه شش نفره شامل گروه اول تمرین بلندمدت و امانده ساز همراه با مصرف گلوکز، گروه دوم اجرای تمرین بلندمدت و امانده ساز توأم با مصرف دارونما و گروه سوم یا کنترل که هیچکدام از موارد فوق را انجام نمی دادند، تقسیم شدند. سپس نمونه های خونی پیش ازآزمون از کلیه گروهها گرفته شد.

متعدد انجام شد (۱۴، ۱۸، ۲۱). زمان استراحتی بین هر وهله سه دقیقه‌ای از طریق مطالعه مقدماتی که قبل از شروع پژوهش حاضر صورت گرفت ۳۰ ثانیه و زمان کل هر جلسه تمرینی دو و نیم ساعت بدست آمد تا با توجه به شاخص گلوکز خون انتهای جلسه تمرینی، تخلیه گلیکوژنی رخ دهد. در این مطالعه مقدماتی با دستکاری زمان‌های استراحتی بین هر تکرار، زمان کل هر جلسه تمرینی و اندازه‌گیری گلوکز خون در ابتدا و پایان جلسه تمرینی و در فواصل زمانی مشخص حین تمرین به عنوان شاخصی برای وقوع تخلیه گلیکوژنی به موارد فوق دست یافتیم. در یک تحقیق به میزان $3/9$ میلی‌مول بر لیتر گلوکز خون پس از تخلیه گلیکوژن و در تحقیق دیگری به میزان $3/1 \pm 0/1$ میلی‌مول بر لیتر گلوکز خون پس از تخلیه گلیکوژن اشاره شده است که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۲۲، ۲۳). این زمان تمرینی و فواصل استراحتی همانطور که در بالا نیز گفته شد ۳۰ ثانیه استراحت بین هر سه دقیقه کار و زمان کل تمرینی در هر جلسه تمرینی دو و نیم ساعت بدست آمد که این شرایط تمرینی به عنوان تمرین مرجع برای وقوع تخلیه گلیکوژنی در نظر گرفته شد و به عنوان پروتکل تمرینی تخلیه گلیکوژنی از آن استفاده شده است.

در این مطالعه قبل از شروع دوره تمرینی یعنی در مرحله پیش‌آزمون و بلافاصله پس از اتمام اولین و آخرین جلسه تمرینی تخلیه گلیکوژنی یعنی طی دو مرحله پس‌آزمون از هر آزمودنی خونگیری از طریق ورید زند اعلی به حجم سه میلی‌لیتر گرفته شد. سپس سرم خون جهت اندازه‌گیری غلظت HSP70 سرم از طریق یک SST vacutainer (BD Vacutainer Systems, Plymouth.UK) از تیوب سه میلی‌لیتری توسط محتوای خون داخل لوله شیشه‌ای حاوی لخته ناشی از پلاگ بدست آمد و همه نمونه‌های خونی در دمای 20°C - برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی نگهداری شدند.

جهت تعیین میزان HSP72 سرم خون از روش ارزیابی ایمونوسوربنت متصل شده به آنزیم (Enzyme-linked immunosorbent assay) یا بطور مختصر ELISA از طریق استفاده از آنتی بادی طبق دستورالعمل کارخانه سازنده [HSP70 ELISA Kit (ADI - EKS-715, Enzo, BIOMOL, Stress Gen)] استفاده شد. با استفاده از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف توزیع طبیعی داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. همچنین از آزمون Leven همگن بودن واریانس گروه‌ها استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و انجام کارهای آماری از مقادیر پیش و پس آزمون‌ها جهت مقایسه سه گروه استفاده شد. جهت بررسی معنی داری بین و درون گروهی از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر (Repeated Measure) و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معنی‌داری $0/05$ در نظر گرفته شد، جهت تجزیه و تحلیل

پس از کنترل سوابق پزشکی، وضعیت تغذیه‌ای و فعالیت‌بدنی و تقسیم‌بندی گروه‌ها، برخی از اندازه‌گیری‌های آنتروپومتریکی که در جدول شماره ۱ آمده است، انجام و سپس نمونه‌های خونی مرحله پیش‌آزمون از هر سه گروه مورد پژوهش گرفته شد و گروه‌ها از نظر نداشتن تفاوت معنی دار متغیرهای وابسته تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند و دوره شش هفته‌ای تمرینی شروع شد. گروه تجربی اول تمرین بلندمدت وامانده ساز به همراه مصرف گلوکز، گروه تجربی دوم تمرین بلندمدت وامانده ساز توأم با مصرف دارونما را به مدت شش هفته و هر هفته دو جلسه انجام می دادند. گروه سوم با کنترل هیچکدام از این موارد را انجام نمی دادند. به گروه تجربی اول نوشیدنی ورزشی حاوی 18% گلوکز به مقدار و حجم 5 ml/kgBW دو و نیم ساعت قبل از اجرای پروتکل ورزشی و حاوی 6% گلوکز به مقدار و حجم 2 ml/kgBW حین اجرای پروتکل ورزشی تخلیه گلیکوژن داده شد (۲۰). گروه تجربی دوم دارونمای حاوی 2% گلوکز به مقدار و حجم 5 ml/kgBW را دو و نیم ساعت قبل از اجرای پروتکل تمرینی و حاوی نوشیدنی 2% گلوکز به مقدار و حجم 2 ml/kgBW حین اجرای پروتکل تمرینی تخلیه گلیکوژن مصرف می کردند (۲۰). گروه سوم نیز هیچگونه فعالیت‌بدنی منظم نداشتند و گلوکزی نیز دریافت نمی کردند. میزان دریافت مقدار و حجم گلوکز بر اساس دوزهای استاندارد و ایمن تهیه شده بود (۲۰). پس از اولین جلسه تمرینی در هفته اول (پس آزمون اول) و پس از شش هفته تمرین بلافاصله پس از آخرین جلسه تمرینی (پس آزمون دوم) نمونه خونی از گروه‌های تحقیقی گرفته شد.

پروتکل تمرین بلند مدت وامانده ساز

جهت تمرین بلند مدت وامانده ساز از آزمون RHIET (Repeated High-Intensity Endurance Test) به عنوان پروتکل تمرینی استفاده شد که الگوی اجرایی آن بدین صورت بود که هشت مخروط در دو ردیف چهارتایی با فاصله دو متر از همدیگر قرار گرفته و در ردیف‌های چهارتایی فاصله مخروطها از یکدیگر پنج متر می باشد. هر آزمودنی با فرمان شروع، اجرای تمرین را آغاز نمود، پنج متر اول را به صورت رفت و برگشت انجام داد و دوباره از مخروط اول تا مخروط سوم که ۱۰ متر است را به طور رفت و برگشت پیمود و در نهایت دوباره تا مخروط چهارم که در فاصله ۱۵ متری قرار دارد رفت و برگشت را انجام داد. در یک بار تکرار این الگوی تمرینی کل مسافت طی شده ۶۰ متر است که طی ۳۰ ثانیه انجام می‌شود. هر آزمودنی باید شش بار بدون استراحت در زمان‌های ۳۰ ثانیه‌ای این تست را اجرا کند که در نهایت کل زمان تست ۱۸۰ ثانیه شد. اگر هر آزمودنی در حین اجرای یک تکرار زودتر از ۳۰ ثانیه رفت و برگشت را کامل کند باید تا انتهای زمان ۳۰ ثانیه منتظر مانده و سپس مرحله بعدی را آغاز نماید. این الگوی تمرینی که زمان کامل یک وهله آن سه دقیقه می‌باشد به دفعات

داده ها از نرم افزار کامپیوتری SPSS 16 و جهت ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

یافته ها

در جدول شماره ۱ میانگین و انحراف معیار ویژگی های پیکرسنجی (جمعیت شناختی) شرکت کنندگان آورده شده است. مقایسه شاخص های پیکرسنجی شرکت کنندگان در ابتدای تحقیق از طریق آزمون تحلیل واریانس یک راهه (ANOVA) در سه گروه نشان داد که از نظر آماری تفاوت معنی داری بین سن ($p=0/26$)، وزن ($p=0/21$)، قد ($p=0/79$)، نمایه توده بدنی ($p=0/24$) و درصد چربی بدن ($p=0/46$) بین گروههای تحقیق وجود ندارد. نتایج داده های سه گروه تحقیق قبل از آغاز دوره تمرینی (پیش

جدول ۱: مقادیر ویژگی های آنتروپومتریک و پیکرسنجی آزمودنیهای تحقیق

متغیر	گروه	گلوکز - تمرین (n=6)	تمرین - دارونما (n=6)	کنترل (n=6)	معنی داری
سن (سال)		۲۱/۶±۲/۶	۲۱/۵±۲/۷	۲۱/۸±۲/۲	۰/۲۶
قد (سانتیمتر)		۱۷۸/۲±۵/۵	۱۷۵/۲±۶/۴	۱۷۶/۲±۵/۸	۰/۷۹
وزن (کیلوگرم)		۷۲/۱±۱۰/۴	۷۳/۱±۹/۶	۷۴/۲±۸/۶	۰/۲۱
نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر مترمربع)		۲۳/۷±۳/۷	۲۲/۲±۴/۳	۲۳/۴±۳/۹	۰/۲۴
چربی بدن (درصد)		۱۹/۷±۵/۹	۱۸/۷±۷/۱	۱۸/۳±۶/۷	۰/۴۶

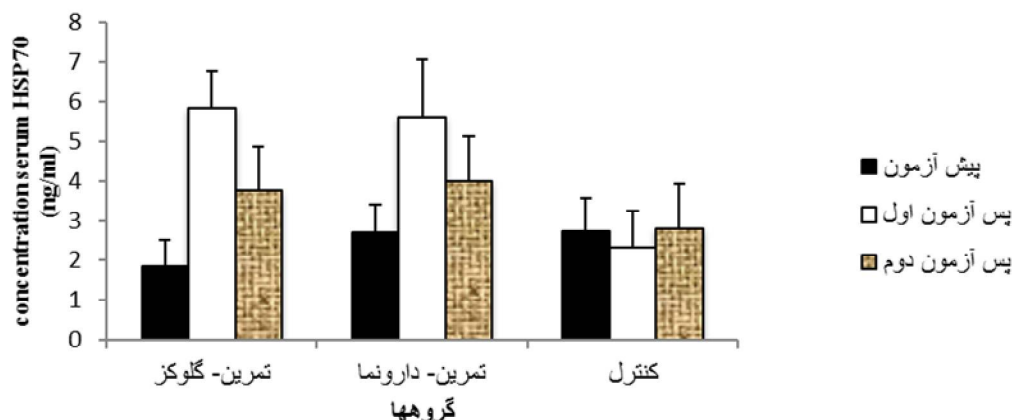
جدول شماره ۲: نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون اندازه گیری های مکرر HSP70 سرمی پیش آزمون و پس آزمون های اول و دوم گروههای تحقیق

مرحله تمرینی	گروه	تمرین - گلوکز و (n=6)	تمرین - دارونما (n=6)	کنترل (n=6)
پیش آزمون HSP70 (ng/ml)		*۱.۹±۰.۷	۲.۷±۰.۷	۲.۷±۰.۹
پس آزمون اول HSP70 (ng/ml)		‡۴.۹±۰.۹	‡‡۵.۶±۱.۵	۲.۳±۰.۹
پس آزمون دوم HSP70 (ng/ml)		‡‡۳.۸±۱.۱	*۳.۹±۱.۲	۲.۸±۱.۱

تفاوت معنی دار با گروه کنترل ($P<0.01$) ‡

تفاوت معنی دار با مرحله پیش آزمون ($P<0.05$) ‡‡

تفاوت معنی دار با مرحله پس آزمون اول ($P<0.05$) *



نمودار ۱: مقادیر HSP70 پیش آزمون و پس آزمون های سرمی گروههای تحقیق

در گروه تمرین - دارونما نتایج یکنواخت بودن واریانس ها بر اساس آزمون کرویت موخلی را نشان داد ($\text{Sig.} = 0/403$)، که معنی داری در این گروه معادل ($\text{Sig.} = 0/003$) بود. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی تفاوت معنی داری در گروه تمرین - دارونما بین مرحله پیش آزمون با مرحله پس آزمون اول ($P < 0.05$) و همچنین بین مرحله پس آزمون اول با مرحله پس آزمون دوم ($P < 0.05$) را نشان داد.

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق جهت اندازه گیری اختلاف بین گروهها در دو مرحله پس آزمون اول و دوم حاکی از تفاوت معنی دار فقط در مرحله پس آزمون اول یا به عبارتی پس از اتمام اولین جلسه تمرینی بین گروههای تحقیق بود و این معنی داری بین گروه تمرین - گلوکز و گروه تمرین - دارونما با گروه کنترل بود و تفاوت معنی دار بین دو گروه تجربی مشاهده نشد. در اکثر تحقیقات صورت گرفته نتایج حاکی از افزایش مقادیر HSP70 و سایر پروتئین های شوک حرارتی در آزمودنی های انسانی و غیرانسانی بود (۸، ۱۰-۱۲). این مسئله بدان معنی است که یک جلسه تمرین با شدت و مدت بالا باعث افزایش پاسخ پروتئین های شوک حرارتی می شود، که در تحقیق حاضر نیز یک جلسه تمرین شدید که منجر به کاهش یا تخلیه منابع گلیکوژنی شد، باعث پاسخ افزایشی در میزان HSP70 سرم شد. نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که پاسخ HSP70 در پایان جلسات تمرینهای مختلف با افزایش مقادیر همراه بوده است (۸، ۱۱، ۱۲). اما در رابطه با سازگاری های بلند مدت پس از چند هفته، نتایج بیشتر تحقیقات قبلی روی آزمودنی های انسانی و حیوانی اشاره دارد که سازگاری پروتئین های شوک حرارتی پس از چند هفته کاهش معنی داری را نشان داد (۱۳، ۱۴). به عبارت دیگر تمرین موجب تغییراتی در بدن می شود که در نهایت این تغییرات منجر به کاهش فشار و استرس به بدن شده و در نتیجه میزان استراحتی HSP70 کاهش می یابد که این رخداد یکی از سازگاری های تمرینی می باشد. بنابراین پاسخ HSP70 پس از یک جلسه تمرین همراه با افزایش اما سازگاری HSP70 پس از چندین هفته تمرین در بیشتر تحقیقات با کاهش همراه بوده است. یکی از سازگاری های احتمالی تمرینی کاهش عوامل استرس زا، التهابی و اکسایشی در بدن می باشد (۱۷، ۲۴-۲۶). لذا منطقی به نظر می رسد که پس از چند هفته تمرین یکی از سازگاریهای تمرینی کاهش عوامل استرس زا و در نتیجه کاهش عواملی که در پاسخ به این عوامل در بدن جهت محافظت از بافتهای مختلف ترشح می شوند را به همراه داشته باشد، لذا می توان سازگاری HSP70 را در تحقیقاتی که با کاهش همراه بوده اند منطقی دانست. ولی این سازگاری پس از چند هفته در زمان استراحتی و مقادیر پایه HSP70 را نسبت به قبل

از دوره تمرینی گزارش داده اند (۱۳، ۱۴)، ولی در تحقیق حاضر بلافاصله پس از آخرین جلسه تمرینی یا مرحله پس آزمون دوم مقادیر HSP70 اندازه گیری شد و تفاوتی بین سه گروه تمرینی مشاهده نشد و شاید همین مسئله دلیل نتایج متفاوت بین سازگاری در تحقیقات قبلی و نتیجه تحقیق حاضر باشد. به نظر می رسد پاسخ HSP70 مستقل از سازگاری باشد و لذا میزان پاسخ عامل ضد استرسی HSP70 با تمرینات ورزشی سازگار نشده یا به عبارت بهتر در هر جلسه تمرینی، شدت و مدت تمرین باعث تفاوت معنی دار بین افراد تمرین کرده و تمرین نکرده وجود ندارد زیرا در هر جلسه تمرینی عواملی که محرک تولید پروتئین های شوک حرارتی هستند وجود دارد و این عوامل با تمرین سازگاری پیدا نکرده و در هر صورت در هر جلسه از تمرین تولید می شوند. شاید همچنین یکی از عوامل احتمالی که بر طبق آن تحقیق حاضر انجام شد کاهش منابع یا تخلیه منابع گلیکوژنی بر اساس یک پروتکل وامانده ساز بلند مدت بود، که باعث افزایش پروتئین های شوک حرارتی و از جمله HSP70 می شود که در تحقیقات قبلی به آن اشاره شد (۹، ۱۴، ۱۷). در تحقیق دیگری میزان پایه HSPs را در مردان تمرین کرده بالاتر از افراد تمرین نکرده نشان داد (۲۷)، اما پاسخ در سازگاری نیز همانند تمرین مستقل از عوامل سوبستریایی و کاهش یا تخلیه این عوامل می باشد چرا که مصرف گلوکز در گروه مکمل گلوکزی نیز نتوانست باعث سازگاری در پاسخ HSP70 شود، لذا پاسخ در HSP70 پس از چند هفته نمی تواند متأثر از مصرف مکمل گلوکزی باشد اگر چه در تحقیقی نشان داده شد، که تمرین مشابه با پروتکل تمرینی در این تحقیق منجر به کاهش معنی دار مقادیر HSP72 سرم پس از چهار هفته همراه با مصرف گلوکز و گلوتامین شد (۱۴)، که با توجه به نتایج تحقیق یاد شده، به نظر می رسد سازگاری بلند مدت مصرف گلوکز در تمرینات بلند مدت در مقادیر پایه HSP70 با کاهش فشار استرسی همراه است. اما نتایج تحقیق حاضر با سازگاری بلند مدت چهار هفته ای تحقیق قبلی متناقض بود که بخشی بدلیل نوع سازگاری در مقادیر استراحتی و پایه با همان مقادیر در حین و بلافاصله پس از اتمام جلسه تمرینی بود. به هر حال آنچه که از نتایج این تحقیق بدست آمده عدم سازگاری در پاسخ پس از شش هفته تمرین بلند مدت وامانده ساز با مصرف مکمل گلوکز و بدون مصرف گلوکز می باشد که شاید اگر نوع مکمل مصرف شده متفاوت بود یا میزان دوز مصرفی آن زیادتر شود بتواند باعث تغییر در سازگاری در پاسخ مقادیر HSP70 سرم شود، همچنین اگر شدت تمرینی زیادتر شود یا تعداد جلسات تمرینی بیشتر شود ممکن است محرکهای بیشتری جهت تغییر مقادیر HSP70 ایجاد شود، اما در تحقیق حاضر دو جلسه تمرین بلند مدت وامانده ساز در هفته و مصرف مکمل گلوکز باعث چنین تغییری نشد که

ضداسترسی و از جمله HSP70 پس از تمرینات بلند مدت دور از ذهن نیست به ویژه اگر بتوان با مداخلات تمرینی و تغذیه‌ای همانند مصرف گلوکز بتوان عوامل استرس را کاهش داد و بنابراین عوامل ضداسترسی نیز کاهش می‌یابند. در تحقیق حاضر نیز نتایج موید تاثیر مثبت در پاسخهای گروه تمرین - گلوکز نسبت به گروه تمرین - دارونما در مرحله پیش آزمون و پس آزمون اول، بر کاهش محتوای گلیکوزنی عضلات، میزان عوامل استرسی و ضداسترسی بود. اما برای سازگاری در پاسخ عامل HSP70 فقط تاثیر مثبت و کاهش بصورت مزمن پس از شش هفته تمرین بلند مدت و امانده ساز فقط در گروه تمرین - گلوکز مشاهده شد که این نتایج نشان دهنده تاثیر مثبت مصرف مکمل گلوکز در گروه تمرین - گلوکز در جهت کاهش عامل ضداسترسی پس از شش هفته نسبت به تمرین به تنهایی می‌باشد.

نتیجه گیری

از نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که تمرین بلند مدت و امانده ساز که می‌تواند مشابه تمرین تخلیه گلیکوزنی باشد، به همراه مصرف مکمل گلوکز بر سازگاری در پاسخ عامل ضداسترسی HSP70 نسبت به تمرین به تنهایی تفاوتی ندارد، اما در سازگاری در پاسخ پس از شش هفته می‌تواند باعث مزیت و سازگاری در پاسخ HSP70 در گروه مکمل گلوکز شود. لذا به نظر می‌رسد، می‌توان جهت جلوگیری از افزایش عوامل استرسی در حین تمرینات بلند مدت از مکملهای کربوهیدراتی در جهت جلوگیری از کاهش سوبسترای منابع سوختی و کاهش عوامل استرسی استفاده کرد.

قدردانی

در این تحقیق از کلیه دانشجویان عمومی که در این تحقیق شرکت کردند و همچنین کارمندان بخش بیوشیمی آزمایشگاه بوعلی شهر قم و جناب آقای دکتر حائری تشکر می‌کنم. تحقیق حاضر به صورت مستقل توسط آقای علی قاسمی در دانشگاه قم انجام شد.

ملاحظات اخلاقی

تحقیق حاضر با نظارت و تصویب معاونت محترم پژوهشی دانشگاه قم و با کسب رضایت کامل از آزمودنی‌ها انجام شد. آزمودنی‌ها از کلیه جنبه‌های تحقیقی اطلاع داشته و هر زمان که می‌خواستند می‌توانستند از پروژه تحقیقی خارج شوند.

منابع مالی

کلیه هزینه‌های تحقیقی اعم از مکمل و هزینه‌های تشخیصی آزمایشگاهی توسط محققین پرداخت شده است.

بخشی بدلیل عدم سازگاری در عوامل تحریک کننده تولید HSP70 طی هر جلسه از تمرین می‌باشد.

همچنین تفاوت معنی دار بین سه مرحله تمرینی در گروه تمرین - گلوکز در هر سه مرحله مشاهده شد. لذا مقادیر HSP70 پس از اتمام اولین جلسه تمرین یا گروه پس آزمون اول با مقادیر پیش آزمون و پس آزمون دوم می‌باشد بدین معنی که پاسخ و سازگاری در پاسخ HSP70 در گروه تمرین - گلوکز در تمامی مراحل تمرینی (پیش و پس آزمون‌های اول و دوم) معنی دار بود. لذا میزان HSP70 در یک جلسه تمرین و پس از شش هفته تمرین تخلیه گلیکوزنی همراه با مصرف مکمل گلوکز باعث افزایش و تفاوت معنی دار در هر سه مرحله زمانی تمرین می‌شود. همچنین شش هفته تمرین تخلیه گلیکوزنی با مصرف گلوکز نسبت به یک جلسه مشابه باعث معنی دار شدن HSP70 می‌شود. از طرفی تفاوت معنی دار بین سه مرحله تمرینی در گروه تمرین - دارونما فقط بین مرحله پیش آزمون با پس آزمون اول و مرحله پس آزمون اول با مرحله پس آزمون دوم بود. در صورتی که در گروه تمرین - گلوکز بین تمام مراحل تفاوت معنی داری وجود داشت (۱۳، ۱۴، ۱۸). لذا مصرف مکمل گلوکز از این حیث می‌تواند باعث مزیتی نسبت به تمرین به تنهایی در مراحل مختلف تمرینی شود. لذا بخشی از تفاوت معنی دار در مراحل پیش آزمون و پس آزمون دوم در گروه تمرین - گلوکز بدلیل مصرف گلوکز در این گروه است که باعث تفاوت در گروه تمرین - گلوکز پس از اولین جلسه تمرین تخلیه گلیکوزنی در قیاس با آخرین جلسه تمرینی پس از شش هفته می‌شود که چنین تفاوتی در گروه تمرین دارونما مشاهده نشد. شاید مصرف گلوکز می‌تواند بخشی از تغییر در گروه تمرین - گلوکز، بین دو مرحله پس آزمون اول و پس آزمون دوم باشد و مصرف گلوکز مطابق با نتایج تحقیقات قبلی توانسته باعث کاهش در میزان پروتئینهای شوک حرارتی بعنوان بخشی از سازگاریهای احتمالی باشد (۱۳، ۱۴) زیرا در تحقیقی نشان داده شد سازگاری بلندمدت در مقادیر استراحتی HSP72 پس از چهار هفته تمرین تخلیه گلیکوزنی با کاهش همراه بود. بنابراین افزایش HSP70 را پس از یک جلسه در هر دو گروه تمرینی - گلوکز و تمرین - دارونما مشاهده شد که با نتایج تحقیقات پیشینه مطابقت داشت (۱۴). اما در مرحله پس آزمون اول و دوم بین دو گروه فقط کاهش معنی دار در گروه تمرین - گلوکز مشاهده کرد که بدلیل جلوگیری از تخلیه منابع قندی در گروه مذکور بوده است که باعث کاهش معنی دار در این گروه نسبت به گروه تمرین - دارونما شد و در تحقیقات قبلی نیز به این نکته اشاره شده است.

یکی از سازگاری‌های تمرینی در بدن می‌تواند کاهش فشار استرسی و متعاقب آن کاهش عوامل ضداسترسی همانند پروتئین‌های شوک حرارتی می‌باشد. از اینرو انتظار کاهش عوامل

منافع متقابل

منافع یا سود مالی شخصی از بابت انتشار این مقاله برای نویسندگان مقاله وجود ندارد.

مشارکت مولفان

میزان مشارکت در مقاله حاضر به صورت زیر می باشد:

- ۱- نویسنده اول (نویسنده مسئول): ع. ق. علی قاسمی کهریزسنگی، استادیار گروه علوم ورزشی، دانشگاه قم، قم، ایران.

کلیه مراحل انتخاب آزمودنی ها و مطالعه مقدماتی و انجام پروتکل تمرین تخلیه گلیکوژنی و همچنین خونگیری پیش آزمون و پس آزمون بر عهده وی بود. همچنین جمع آوری داده ها و تهیه مقاله بر عهده وی بود. بیش از ۷۰ درصد انجام امور آزمایشگاهی، تمرینی و تدوین مقاله بر عهده نویسنده مسئول بود.

۲- نویسنده دوم: م. ا. محسن اکبرپور، دانشیار گروه علوم ورزشی، دانشگاه قم، قم، ایران.

انجام کارهای آماری و آنالیزهای آزمایشگاهی برعهده وی بود. ۳۰ درصد از امورات تهیه مقاله بر عهده نویسنده دوم بود.

References

1. Lewis E J, Ramscook A H, Locke M, Amara C E. Mild eccentric exercise increases Hsp72 content in skeletal muscles from adult and late middle-aged rats. *Cell Stress and Chaperones* 2013; **18**(5): 667-673. doi: 10.1007/s12192-013-0412-4
2. Naughton L M, Ric L, Madden L. Heat shock proteins in exercise: A Review. *Journal of Exercise Science and Physiotherapy* 2006; **2**: 13-26.
3. Nylandsted J, Brand K, Jäättelä M. Heat shock protein 70 is required for the survival of cancer cells. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2000; **926**(1): 122-125. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb05605.x
4. Rohde M, Dugaard M, Jensen M H, Helin K, Nylandsted J, Jäättelä M. Members of the heat-shock protein 70 family promote cancer cell growth by distinct mechanisms. *Genes & development* 2005; **19**(5): 570-582. doi: 10.1101/gad.305405&Dev.2005
5. Paulsen G, Lauritzen F, Bayer M L, Kalhovde J M, Ugelstad I, Owe SG, et al. Subcellular movement and expression of HSP27, α B-crystallin, and HSP70 after two bouts of eccentric exercise in humans. *Journal of applied physiology* 2009; **107**(2): 570-582. doi: 10.1152/jappphysiol.00209.2009
6. Febbraio M, Koukoulas I. HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. *Journal of applied physiology* 2000; **89**(3): 1055-1060.
7. Salehian O, Soori R, Ravasi A, Mohammad R. The comparison study of effect of endurance and interval training on Hsp70 levels in mice with breast cancer tumor. *International Journal of Biosciences (IJB)* 2014; **4**(7): 70-75. doi: 10.12692/ijb/4.7.70-75
8. Dabidiroshan Z AH, Mousavi S G. Effect of increasing endurance training and weight training session in response to heat shock protein active young women. *Journal of Movement Science & Sports* 2008; **12**(2): 77-86. doi: 10.1080/1543862910940
9. Febbraio M A, Steensberg A, Walsh R, Koukoulas I, Hall Gv, Saltin B, et al. Reduced glycogen availability is associated with an elevation in HSP72 in contracting human skeletal muscle. *The Journal of Physiology* 2002; **538**(3): 911-917. doi: 10.1113/jphysiol.2001.013145
10. Nameni F. The Effect of One Bout Endurance And Acute Exercise on HSP 70 in Female. *World Applied Sciences Journal* 2012; **18**(5): 727-730. doi: 10.1016/j.jsams.2012.11.602
11. Whitham M, Laing S J, Jackson A, Maassen N, Walsh N P. Effect of exercise with and without a thermal clamp on the plasma heat shock protein 72 response. *Journal of applied physiology* 2007; **103**(4): 1251-1256. doi: 10.1152/jappphysiol.00484.2007
12. Whitham M, Fortes M. Effect of blood handling on extracellular Hsp72 concentration after high-intensity exercise in humans. *Cell stress & chaperones* 2006; **11**(4): 304. doi: 10.1379/CSC-212.1
13. Aghaalienejad H TA, Zoheir M H, Mahdavi M, Shahrokhi S. The effect of continuous aerobic exercise on HSP70 and Lifetime of mice with breast cancer tumor. *Olympic Journal* 2008; **42**: 75-86. doi: 10.12692/ijb/4.7.70-75
14. Ghasemi Kahrizsangi A HMR, Kazemi A, Ravasi A A, Dehkhoda M R. The effect of glucose and glutamine supplementation on serum HSP72 in non-athlete men during four weeks exhausting endurance-intermittent training. *Res in Sport Med & Technol* 2014; **7**(23): 1-12. [Persian]
15. Marshall H C, Ferguson R A, Nimmo M A. Human resting extracellular heat shock protein 72 concentration decreases during the initial adaptation to exercise in a hot, humid environment. *Cell stress & chaperones* 2006; **11**(2): 129. doi: 10.1379/CSC-158R.1
16. Cluberton L J, McGee S L, Murphy R M, Hargreaves M. Effect of carbohydrate ingestion on exercise-induced alterations in metabolic gene expression. *Journal of applied physiology* 2005; **99**(4): 1359-1363. doi: 10.1152/jappphysiol.00197.2005
17. Morton J P, Croft L, Bartlett J D, MacLaren D P, Reilly T, Evans L, et al. Reduced carbohydrate availability does not modulate training-induced heat shock protein adaptations but does upregulate oxidative enzyme activity in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology* 2009; **106**(5): 1513-1521. doi: 10/1152/jappphysiol.00003.2009

18. Ghasemi Kahrizsangi A HMR, Kazemi A, Ravasi A A, Dehkhoda M R. The effect of glucose and glutamine supplementation on some serum growth factors in non-athlete men during four weeks exhausting endurance-intermittent training. *Qom Univ Med Science Jour* 2011; **5**(4): 47-54. [Persian]
19. Mackenzie B. *Performance evaluation tests*. USA; Peak Performance. 2005. doi: 10.1016/S0166-5316(05)00009-X
20. Antonio J, Stout J R. *Sports supplements*. Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
21. Bailey C. Guidelines for athlete assessment in New Zealand sport. Auckland: New Zealand Hockey Federation (Inc). 2002: 1-8.
22. Ivy J L, Goforth H W, Damon B M, McCauley T R, Parsons E C, Price T B. Early postexercise muscle glycogen recovery is enhanced with a carbohydrate-protein supplement. *Journal of applied physiology* 2002; **93**(4): 1337-1344. doi: 10.1152/jappphysiol.00394.2002
23. Zawadzki K, Yaspelkis B, Ivy J. Carbohydrate-protein complex increases the rate of muscle glycogen storage after exercise. *Journal of applied physiology* 1992; **72**(5): 1854-1859.
24. Kaldur T, Kals J, Ööpik V, Zilmer M, Zilmer K, Eha J, et al. Effects of heat acclimation on changes in oxidative stress and inflammation caused by endurance capacity test in the heat. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2014; **107**(137): 1-8. doi: 10.1155/2014/107137
25. Shirinbayan V, Roshan V D. Pretreatment effect of running exercise on HSP70 and DOX-induced cardiotoxicity. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP* 2011; **13**(11): 5849-5855. doi: 10.7314/APJCP.2012.13.11.5849
26. Asghar T, Akram A, Ali J, Bahram JQ. Effect of short-term caffeine supplementation on stress response and immune system of male athletes. *Pedagogics, psychology, medical-biological problems of physical training and sports* 2014; **4**: 74-79. doi: 10.6084/m9.figshare.950961
27. Morton J P, Maclaren D, Cable N T, Campbell I T, Evans L, Kayani A C, et al. Trained men display increased basal heat shock protein content of skeletal muscle. *Medicine and science in sports and exercise* 2008; **40**(7): 1255-1262. doi: 10.1249/MSS.0b013e31816a7171

Original Article

Effect of eight weeks of jump- landing exercise on feedforward and feedback activation of selected trunk and lower extremity muscles and lower extremity performance in active females

Leila Keshavarz¹ , Amir Letafatkar^{2*} , Malihe Hadadnezhad² 

¹Department of Physical Education and Sport Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

²Department of Biomechanic and Sport Injuries, School of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

*Corresponding author; E-mail: letafatkaramir@yahoo.com

Received: 1 October 2016 Accepted: 18 December 2016 First Published online: 13 December 2018
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):72-82

Abstract

Background: Jump and landing is the characteristics of most sports and one of the main mechanisms of anterior cruciate ligament injuries. Researchers believed mechanism-based designing the preventive exercises can possibly have a better effectiveness. The aim of this study was to evaluate the effect of eight weeks of jump- landing exercise on feedforward and feedback activation of selected trunk and lower extremity muscles and performance in active females.

Methods: In this quasi- experimental study, 25 active females age ranged 18-26 years were participated. The electromyography device ME6000 model and triple hop test were used for muscle activity (hamstring, quadriceps, gluteus medius and maximus in drop landing) and performance evaluation respectively. After pre test, the experimental group underwent to Herrington et al eight weeks of jump- landing exercises. After implementation of training, post test of electromyography and performance were done similar to pre test and data were statistically analysed by using independent and sample t tests.

Results: Results of paired t test revealed that the jump- landing exercises led to significant differences in feedforward and feedback activation [VM($P_{ff}=0/002$, $P_{fb}=0.001$), VL($P_{ff}=0.001$, $P_{fb}=0.021$), RF($P_{ff}=0.004$, $P_{fb}=0.001$), MH($P_{ff}=0.001$, $P_{fb}=0.001$), LH($P_{ff}=0.001$, $P_{fb}=0.034$), G_{med} ($P_{ff}=0.001$, $P_{fb}=0.001$) and G_{max} ($P_{ff}=0.001$, $P_{fb}=0.001$)] and performance($P=0.001$) in experimental group from pre test to post test whereas there was no significant differences in control group.

Conclusion: It can be concluded that jump- landing exercises with modifying and optimizing the knee stabilizer activation and in other hand with improving the performance might have important role in anterior cruciate ligament injury in active females.

Keywords: Anterior Cruciate Ligament, Injury Prevention, Electromyography, Feedforward Activity, Feedback Activity

How to cite this article: Keshavarz L, Letafatkar A, Hadadnezhad M. [Effect of eight weeks of jump- landing exercise on feedforward and feedback activation of selected trunk and lower extremity muscles and lower extremity performance in active females]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):72-82. Persian.

مقاله پژوهشی

تاثیر هشت هفته تمرین پرش- فرود بر فعالیت فیدفورواری و فیدبکی برخی عضلات منتخب تنه و اندام تحتانی و عملکرد اندام تحتانی زنان فعال

لیلا کشاورز^۱، امیر لطافت کار^۲، ملیحه حدادنژاد^۳ ID^۱دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران
^۲گروه بیومکانیک و آسیب شناسی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
^۳نویسنده مسئول: ایمیل letafatkaramir@yahoo.comدریافت: ۱۳۹۵/۷/۱۰ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۲۸ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۷ آذر و دی؛ ۴۰(۵): ۷۲-۸۲

چکیده

زمینه: پرش و فرود از ویژگی‌های اکثر ورزش‌ها و از مکانیسم‌های اصلی آسیب لیگامان صلیبی قدامی محسوب می‌شود. محققان عقیده دارند طراحی تمرینات پیشگیرانه مکانیسم‌محور احتمالاً بتواند اثرگذاری بهتری به همراه داشته باشد. هدف کلی این پژوهش بررسی تاثیر هشت هفته تمرینات پرش- فرود بر فعالیت فیدفورواری و فیدبکی برخی عضلات منتخب تنه و اندام تحتانی و عملکرد حرکتی زنان فعال بود.

روش کار: در این تحقیق نیمه تجربی، ۲۵ زن فعال ۱۸ تا ۲۶ ساله شرکت کردند. جهت بررسی فعالیت الکتریکی عضلات (عضلات همسترینگ، کوادریسپس و گلوئوس مدیوس و ماگزیموس در فرود از روی پله) و عملکرد حرکتی به ترتیب از دستگاه الکترومیوگرافی سطحی مدل ME6000 و آزمون لی سه گانه استفاده شد. بعد از انجام پیش آزمون، آزمودنی‌های گروه تجربی تحت برنامه تمرینی هشت هفته‌ای پرش- فرود پیشرونده هرینگتون و همکاران قرار گرفتند. بعد از انجام تمرینات، پس آزمون الکترومیوگرافی و عملکرد حرکتی مانند پیش آزمون انجام شده و داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج آزمون تی زوجی نشان داد که تمرینات پرش- فرود منجر به ایجاد تغییرات معنادار در نمرات فعالیت فیدفورواری و فیدبکی [واستوس- مدیالیس (P=۰/۰۰۲، فیدفورواری P=۰/۰۰۱)، واستوس لترالیس (P=۰/۰۰۱، فیدفورواری P=۰/۰۲۱)، رکتوس فموریس (P=۰/۰۰۴، فیدفورواری P=۰/۰۰۱)، مدیال همسترینگ (P=۰/۰۰۱، فیدفورواری P=۰/۰۰۱)، لترال همسترینگ (P=۰/۰۰۱، فیدفورواری P=۰/۰۳۴)، گلوئوس مدیوس (P=۰/۰۰۱، فیدفورواری P=۰/۰۰۱)، و گلوئوس ماگزیموس (P=۰/۰۰۱، فیدفورواری P=۰/۰۰۱)] و عملکرد حرکتی (P=۰/۰۰۱) گروه تجربی از پیش آزمون به پس آزمون می- شود در حالی که تفاوت در گروه کنترل معنادار نبود.

نتیجه‌گیری: تمرینات پرش- فرود با تعدیل و بهینه کردن میزان فعالیت عضلات ثبات‌دهنده زانو، و از طرفی دیگر بهبود عملکرد حرکتی افراد احتمالاً می- تواند نقش مهمی در کاهش آسیب‌دیدگی ACL در زنان فعال داشته باشند.

کلید واژه‌ها: لیگامان صلیبی قدامی، پیشگیری از آسیب، فعالیت الکتریکی عضله، فعالیت فیدفورواری، فعالیت فیدبکی

نحوه استناد به این مقاله: کشاورز ل، لطافت کار ا، حدادنژاد م. تاثیر هشت هفته تمرین پرش- فرود بر فعالیت فیدفورواری و فیدبکی برخی عضلات منتخب تنه و اندام تحتانی و عملکرد اندام تحتانی زنان فعال. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۷۲-۸۲

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

شایع‌ترین آسیب لیگامانی زانو، آسیب ACL (anterior cruciate ligament) می‌باشد (۱) که در ورزشکاران جوان ۱۵ تا ۲۵ ساله شیوع بیشتری دارد و مکانیسم آن حدود ۷۰ درصد بصورت غیر برخوردی و ۳۰ درصد برخوردی اتفاق می‌افتد (۲). آسیب‌های غیربرخوردی ACL معمولاً حین کاهش شتاب، فرود از پرش یا هنگام چرخش و آماده شدن برای انجام مانورهای برشی رخ می‌دهند (۳). میزان پارگی ACL یک مورد در هر نفر در سال برآورد شده است (۴). زنان به لحاظ آناتومیک، بیومکانیکی، فیزیولوژیکی و عصبی - عضلانی هشت برابر بیشتر از مردان در معرض آسیب ACL قرار دارند. برخی از ویژگی‌ها باعث می‌شود که زنان در هنگام مانورهای آسیب‌رسانی مانند پرش و فرود دارای مکانیسم‌های جبرانی شده و در نهایت صدمات بیشتری دریافت کنند. علاوه بر تفاوت‌های جنسیتی در فعال‌شدگی عضلات کوادریسپس و همسترینگ، تفاوت در زمانبندی فعالیت این دو گروه عضلانی در تحقیقات اندکی گزارش شده است، از طرف دیگر در برخی از تحقیقات طی حرکت فرود تاخیر در شروع فعالیت نیمه غشایی مردان در حرکت تماس پا با زمین نسبت به زنان ورزشکار گزارش شده است که این مورد می‌تواند یک مکانیسم حفاظتی باشد که اجازه می‌دهد عضله همسترینگ فعالیت بیشینه‌ای همزمان با حرکت برش قدامی تیبا داشته باشد تا اینکه از ایجاد حرکات آسیب‌زا برای لیگامان ACL جلوگیری کند (۴-۶). بطوری‌که در سال ۲۰۰۶ میزان ۱۲۷۴۶۶ عمل جراحی بازسازی ACL در آمریکا انجام گردید که متوسط هزینه هر عمل جراحی پیوند ACL حدود ۵۰۰۰ تا ۶۰۰۰ دلار بود (۵، ۶). این آسیب علاوه بر هزینه درمان زیاد، سالانه ۶۲۵ میلیون دلار موجب از دست دادن مشارکت ورزشی و حتی از دست دادن فصل ورزشی و نیز ایجاد آسیب‌های ثانویه مثل استئوآرتریت (افزایش بیش از ۱۰ برابر)، پارگی مینیسک و نیز مشکلات و مسائل روحی و روانی در فرد می‌گردد (۷، ۸). همچنین، برخی پژوهشگران بر این باورند که فشارها در مفصل زانو به صورت مجموعه‌ای عمل می‌کنند و آسیب‌های غیربرخوردی رباط صلیبی قدامی احتمالاً بر اثر افزایش حرکت و فشار در سطوح مختلف ساجیتال، فرونتال و هوریزنتال است که به صورت چند سطحی اتفاق می‌افتد (۹). بنابراین، بررسی راستای زانو احتمالاً می‌تواند در برآورد تشخیص رباط صلیبی قدامی مهم باشد؛ اما نکته قابل توجه این است که نتایج برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد افزایش زاویه والگوس یا مقدار گشتاور ابدکتوری زانو (مقدار نیروی عضلانی که درشتنی را قبل از تماس پا با زمین (تقریباً حدود ۰/۰۴ ثانیه) در هنگام فرود با یک پا به سمت خارج متمایل می‌کند) نمی‌تواند به تنهایی دلیلی بر انتقال درشت نی به جلو یا به بیرون در یک فرود تلقی شود. اگرچه شواهدی وجود دارد مبنی بر این که افزایش زاویه والگوس

و مقدار گشتاور ابدکتوری زانو، عامل آسیب دیدگی ACL است. این عوامل، افزایش حرکت انتقال زانو در هنگام فرود را تأیید نمی‌کنند (۱۰)، که مجموعه این عوامل محققان را به سمت برنامه‌های پیشگیری از این آسیب سوق می‌دهد. تحقیقات نشان داده که آسیب ACL در حدود کمتر از ۱۰۰ میلی ثانیه رخ می‌دهد در حالیکه فعال‌سازی عضلات رفلکسی حدوداً ۱۲۸ میلی ثانیه بطول می‌انجامد (۱۱، ۱۲). این نتایج بیانگر این است که آسیب ACL خیلی سریعتر از پاسخ رفلکسی عضلانی برای پیشگیری رخ می‌دهد (۱۳). این فعالیت عضلانی اولیه ممکن است از طریق عملکرد دوکهای عضلانی فعالیت رفلکسی عضلات را بهبود بخشیده و با شناسایی سریعتر اغتشاشات غیرمستطهره ریسک آسیب لیگامانی را کاهش دهد (۱۳). این الگوی عملکرد برنامه‌ریزی اولیه با تمرینات عصبی عضلانی قابل تعدیل و قابل تغییر است. تمرینات پلايومتریک می‌تواند این نوع از تغییرات در فعال‌سازی عضلانی و برنامه ریزی فیدفوراردی را از طریق سازگاری‌های عصبی عضلانی به رفلکس کششی، الاستیسیته عضلات و ارگان‌های گلژی تاندونی ایجاد کند (۱۴). تمرینات پلايومتریکی می‌توانند منجر به کاهش نیروی عکس‌العمل زمین، کاهش ابداکشن و اداکشن ران در حین فرود، افزایش توان عضلانی اندام تحتانی و کاهش رخداد آسیب‌های جدی زانو شود (۱۴). Kong و همکاران، نیز با اعمال شش هفته تمرین پلايومتریک توانستند فعالیت فیدفوراردی عضلات اداکتور و هم انقباضی عضلات اداکتور و اداکتور را ارتقا دهند (۱۴). Alentorn-Geli و همکاران در تحقیق خود که به مدت یک فصل انجام شد اثرات مثبتی بر کینماتیک ران مشاهده کردند اما اثرات مثبتی بر کینماتیک زانو مشاهده نکردند. البته آنها بیان کردند که تمرینات پیشگیری به همراه تمرینات تخصصی فوتبال به مدت یک فصل موجب بهبود کینماتیک اندام تحتانی می‌شود (۱۵). Monajati و همکاران، با توجه به افزایش ابداکشن زانو در فرود به عنوان یک ریسک فاکتور به دنبال نقص عصبی عضلانی تسلط لیگامان و تنه و حتی پا، به بررسی اثر هفت هفته تمرینات عصبی عضلانی در دو گروه پرخطر و کم خطر پرداختند که در نتیجه تمرینات اثر معناداری در کاهش ابداکشن زانو در گروه پرخطر داشت، اما هنوز میانگین ابداکشن زانو به حد گروه کم خطر نرسیده بود. این محققین به این نتیجه رسیدند که اگرچه این تمرینات بر گروه پرخطر اثرگذار است ولی برای کنترل بهینه نیاز به مدت زمان بیشتر و شدت تمرین بیشتر است (۱۶، ۱۷). Blackburn و همکاران در سال به بررسی اثر تمرینات ایزومتریکی و ایزوتونیکی بر سفتی عضلانی همسترینگ و مکانیسم اعمال لود بر ACL پرداختند. بعد از شش هفته تمرین به این نتیجه رسیدند که با تمرینات ایزومتریک و ایزوتونیک، STIFNESS عضلانی افزایش می‌یابد و به دنبال آن

که دارای شرایط اولیه ورود به تحقیق بودند وارد تحقیق شدند. نمونه‌ها ابتدا بصورت هدفمند انتخاب و سپس به صورت تصادفی به دو گروه (تمرینات پرش-فرود و کنترل) تقسیم شدند. از جامعه مورد تحقیق، آزمودنی‌های تحقیق متشکل از ۳۰ آزمودنی دارای (سن $22/47 \pm 4/81$ سال، قد $170/32 \pm 5/67$ سانتی متر، وزن $69/4 \pm 5/68$ کیلوگرم و سابقه فعالیت ورزشی $5/33 \pm 2/1$ سال) انتخاب شدند. تعداد نمونه‌ها با استناد به تحقیقات مشابه (با توجه به مقادیر انحراف استاندارد و میانگین متغیرهای تحقیق) انجام شد که در این معادله تعداد آزمودنی مورد نظر برای هر گروه، ۱۲ نفر بدست آمد (فرمول زیر) که در این تحقیق برای فائق آمدن بر مشکل ریزش احتمالی آزمودنی‌ها در طی تحقیق و در دسترس بودن تعداد نمونه‌های کافی، ۱۵ نفر در گروه تمرینات پرش-فرود و ۱۵ نفر در گروه کنترل در نظر گرفته شد.

$$N = [(Z_{1-\alpha}/2 + Z_{1-\beta})^2 (S_1^2 + S_2^2)] / (M_1 - M_2)^2$$

جهت بررسی فعالیت الکتریکی عضلات از دستگاه الکترومیوگرافی سطحی مدل ME6000 ساخت شرکت Mega استفاده شد. این دستگاه دارای ۱۶ کانال می‌باشد. دستگاه الکترومیوگرافی سطحی مدل ME6000 با استفاده از چهار باتری قلمی آلکالاین لیتیم ۱/۵ ولت قابل استفاده است. جهت تعیین لحظه برخورد پا با زمین حین فرود، از یک سوئیچ کف پای صفحه‌ای استفاده شد. این دستگاه بصورت همزمان با الکترومیوگرافی برای اندازه‌گیری فعالیت الکترومیوگرافی عضلات حین فرود بر روی یک پا و نیز در تکلیف پرش تاک بطور همزمان برای تشخیص زمان برخورد پا با زمین مورد استفاده قرار گرفت. از پله‌های چوبی برای انجام فرود بر روی یک پا استفاده شد. ارتفاع این پله ۴۰ سانتی‌متر است. از آنجایی که نقص‌های کنترل نوروماسکولار در فرود از ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر و بیشتر مشخص شد، در این تحقیق نیز از پله با همین ارتفاع استفاده شد (۲۰، ۱۹). برای تعیین محل الکترودها از لمس لندمارک‌های استخوانی و انقباض ایزومتریک استفاده شد. قطر الکترودها دو سانتی‌متر و فاصله بین الکترودها دو سانتی‌متر است. الکترودها در مسیر فیبرهای عضلات مورد بررسی قرار می‌گیرد. برای بررسی فعالیت الکتریکی عضله رکتوس فموریس، الکترودها در نقطه ۵۰ درصدی فاصله بین ASIS و لبه فوقانی کشکک وصل شد، برای بررسی فعالیت الکتریکی عضله واستوس مدیالیس، تقریباً چهار سانتی‌متر بالا و سه سانتی‌متر داخل‌تر نسبت به خط فوقانی-داخلی پاتلا و با زاویه ۵۵ درجه به داخل نسبت به خط عمود بر روی پوست قرار گرفت و برای بررسی فعالیت الکتریکی عضله واستوس لترالیس، ۱۰ سانتی‌متر بالا و هفت سانتی‌متر خارج خط فوقانی پاتلا و با زاویه ۱۰ درجه به خارج نسبت به خط عمود پوست قرار گرفت.

مکانیسم اعمال لود بر ACL نیز به نحوی که بار کمتری اعمال شود گیری نسبت داد (۱۷ و ۱۸). پیشگیری از آسیب لیگامان ACL به دلیل جلوگیری از ایجاد آسیب‌های ثانویه این آسیب مانند پارگی مینیسک و استئوآرتریت زانو اهمیت ویژه‌ای دارد. مسائل مالی متعاقب آسیب لیگامان ACL مانند هزینه جراحی، توانبخشی و عوامل روانی اجتماعی، لزوم بکارگیری برنامه‌های پیشگیری از آسیب را پررنگ‌تر کرده است. علاوه بر هزینه‌های مالی، از دست دادن کل فصل ورزشی و ناتوانی در دراز مدت از عواقب وقوع آسیب لیگامان ACL می‌باشد. همچنین با توجه به اینکه پرش و فرود از ویژگی‌های اکثر ورزش‌ها و از مکانیسم‌های اصلی آسیب لیگامان صلیبی قدامی محسوب می‌شود. محققان عقیده دارند طراحی تمرینات پیشگیرانه مکانیسم‌محور احتمالاً بتواند اثرگذاری بهتری به همراه داشته باشد. با توجه به مطالب فوق محقق در نظر دارد تاثیر هشت هفته پروتکل تمرینات پرش-فرود را بر زمانبندی و میزان فعالیت برخی عضلات منتخب تنه و اندام تحتانی (همسترینگ، کوادریسپس و گلوئتال) و عملکرد حرکتی اندام تحتانی (نمرات آزمون هاپینگ سه گانه) زنان فعال مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

با توجه به اعمال مداخله، وجود گروه کنترل و انتخاب هدفمند آزمودنی‌ها به علت ماهیت تحقیق، روش تحقیق حاضر از نوع نیمه‌تجربی است. این تحقیق دارای دو گروه، شامل گروه تمرینات پرش-فرود و گروه کنترل بود. معیارهای ورود شامل زنان فعال گروه سنی ۱۸ تا ۲۶ سال و دارای پیش شرط‌های لازم برای اجرای آزمون پلايومتریک برای پرش تاک بود. معیارهای خروج از تحقیق شامل شرکت در برنامه تمرینات پیشگیری از آسیب در یک سال گذشته، وجود سابقه آسیب دیدگی در یک سال گذشته در ناحیه تنه و اندام تحتانی، وجود درد در زمان تحقیق و یا سابقه جراحی در ناحیه تنه و اندام تحتانی، وجود ناهنجاری‌های اندام تحتانی (زانوی ضربدری، زانوی پرنتری، زانوی عقب رفته و کف پای صاف) (قابل تشخیص با ارزیابی بصری)، وجود سابقه زایمان (در زنان)، وجود سابقه آسیب دیدگی وستیبولار، گوش داخلی و لیگامانی در اندام تحتانی در یک سال گذشته و وجود کوتاهی همسترینگ بود. جامعه آماری این تحقیق شامل زنان فعال دامنه سنی ۱۸ تا ۲۶ سال ساکن کرج بودند که در ورزش‌های والیبال، فوتسال و هندبال تجربه کافی داشتند. با توجه به اینکه نقص‌های کنترل نوروماسکولار زمینه‌ساز آسیب ACL معمولاً بیشتر در افراد فعال وجود داشته و آسیب ACL نیز بیشتر در زنان فعال مشاهده می‌شود بنابراین محقق سعی کرده است که بر روی این جامعه تحقیق خود را انجام دهد. با مراجعه به باشگاه‌های ورزشی کرج، پس از تکمیل فرم جمع‌آوری اطلاعات، افرادی

محل قرارگیری الکترودهای عضله مدیال همسترینگ، نقطه ۳۶ درصدی فاصله بین توپروزیته ایسکیال و بخش داخلی حفره پوپلیتال (شروع از توپروزیته ایسکیال) و لترال همسترینگ نقطه ۵۰ درصدی فاصله بین توپروزیته ایسکیال تا سر فیولا بر روی شکم عضله بود. محل الکترودگذاری عضله گلوئوس مدیوس وسط فاصله میان تروکانتر بزرگ ران و خارجی ترین وجه ستیغ ایلیاک است. محل الکترودگذاری عضله گلوئوس ماگزیموس وسط فاصله میان تروکانتر بزرگ ران و مهره‌های ساکral است. داده‌های الکترومیوگرافی با فرکانس نمونه برداری (Sampling rate) ۱۰۰۰ هرتز جمع‌آوری می‌شوند. این سیگنال‌ها ابتدا به میزان ۱۰ برابر (۱۰x) پیش تقویت شده (Preamplified) و در محدوده گذردهی (Band-pass filter) بین ۲۰ تا ۵۰۰ هرتز فیلتر گردید. برای محاسبه میزان فعالیت فیدفوراردی عضلات، زمان شروع فعالیت عضلات در بازه زمانی بین ۴۰۰- میلی‌ثانیه تا ۵۰۰ میلی- ثانیه پیش از برخورد پا با زمین محاسبه شده و با توجه به زمان بدست آمده میزان فعالیت عضلات محاسبه شد. همچنین میزان فعالیت فیدبکی عضلات نیز در بازه زمانی ۵۰۰ میلی‌ثانیه پس از برخورد پا با زمین تا ۳۵۰ میلی‌ثانیه پس از برخورد پا با زمین محاسبه شد (۲۱). به این ترتیب که سیگنال خام الکترومیوگرافی در بازه زمانی عنوان شده به‌وسیله الگوریتم (Root Mean Square) (محاسبه ریشه میانگین مربعات) با ثابت زمانی ۵۰ میلی‌ثانیه و به‌وسیله نرم افزار Megawin نسخه ۳ مورد پردازش قرار گرفت. عدد حاصل از پردازش به‌وسیله RMS، منعکس کننده میانگین توان یک سیگنال است که میزان یا سطح فعالیت عضله را نشان می‌دهد (۱۹). در این تحقیق مرجع نرمال کردن میزان فعالیت الکتریکی، حداکثر انقباض ایزومتریک ارادی (Maximum Voluntary isometric Contraction) در نظر گرفته شد (۲۰). فعالیت الکتریکی نرمال شده عضلات در سه تکرار مختلف تکلیف فرود بر روی یک پا محاسبه می‌شود و با گرفتن میانگین بین فعالیت‌های الکتریکی در این سه تکرار، فعالیت الکتریکی نهایی برای هر عضله محاسبه می‌گردد (۲۱). پوزیشن MVC برای عضلات کوادرپسپس حالت نشسته بر روی صندلی و فلکشن ایزومتریک ۹۰ درجه زانو و برای عضلات همسترینگ حالت دمر و فلکشن ایزومتریک ۲۰ درجه زانو بود. برای گلوئوس مدیوس، بصورت به پهلو خوابیده، مقاومت به بالای زانو در مقابل اداکشن ران اعمال شد. برای گلوئوس ماگزیموس بصورت دمر، لگن در انتهای تخت قرار گرفت و تنه روی تخت ثابت شد، مقاومت دستی حداکثر به ران‌ها در مقابل اکستنشن ران با زانوی خم اعمال شد. برای اجرای آزمون فرود بر روی یک پا، آزمودنی در وضعیتی متعادل نزدیک به لبه سکویی با ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر به طریقی می- ایستاد که پای غالب در حالت معلق (پاشنه پا در تماس با لبه جلویی سکو) قرار گرفته و به لبه جلویی سکو تکیه داشته باشد.

برای انجام آزمون از آزمودنی خواسته شد تا بصورت کاملاً عمودی و متعادل، بدون خم کردن، پایین آوردن تنه و حالت پرشی بر روی پای غالب فرود آید. پس از فرود از آزمودنی خواسته می- شد وضعیت را برای پنج ثانیه حفظ کند. قبل از انجام آزمون، آزمودنی‌ها برای انجام صحیح آزمون مورد آموزش قرار می‌گرفت. در شروع هر کوشش، هنگامی که آزمودنی در وضعیت آزمون قرار می‌گرفت، به مدت سه ثانیه و هنگامی که هیچ فعالیت عضلانی قابل تشخیصی وجود نداشت، فعالیت الکترومیوگرافی عضلات ثبت شده و به عنوان خط مبنا در نظر گرفته می‌شد. هر آزمودنی سه کوشش صحیح را با فاصله ۳۰ ثانیه انجام می‌داد. این آزمون قدرت و توان اندام تحتانی را اندازه گیری می‌کند. ضریب پایایی آن توسط Hamilton ۰.۹۸٪ گزارش شده است. آزمودنی با پای برتر پشت خط شروع می‌ایستاد و سه پرش حداکثری و پشت سر هم با پای برترش در یک خط مستقیم انجام می‌داد. امتیاز هر فرد در واحد سانتی‌متر از خط شروع تا محل برخورد پاشنه آزمودنی با زمین در سومین پرش محاسبه شد. آزمون‌های جهشی سه مرتبه انجام می‌شدند که میانگین رکورد آزمودنی جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده می‌شد (۳،۲). پروتکل مورد استفاده در این تحقیق برگرفته از پروتکل هرینگتون و کامفورت (Herrington & Comfort) می‌باشد که به مدت هشت هفته و هفته ای سه جلسه انجام شد. تمرینات مورد نظر در سه مرحله (مرحله اول: تمرینات پرش - فرود (هفته یک تا چهار)، مرحله دوم: تمرینات ترکیبی (هفته پنج تا شش) و مرحله سوم: تمرینات مهارتی (هفته هفت تا هشت)) انجام شد (۲۲). در هر هفته یک تمرین جدید به تمرینات قبلی اضافه شده و یک تمرین حذف می‌شد. میزان افزایش اضافه بار در انتهای هر هفته بصورت ده درصد اعمال گردید. در تمریناتی که وابسته به زمان بودند، بازه زمانی ۳۰ تا ۶۰ ثانیه لحاظ شد که فرد در جلسه اول هفته ۳۰ ثانیه و در جلسه آخر هر هفته باید ۶۰ ثانیه را تمرین می‌کرد. زمان استراحت بین تکرارها به نسبت دو به یک و بین ست ها سه به یک تنظیم شد. در این پروتکل بر استراتژی فرود صحیح در آزمودنی ها تاکید می‌شد. در حین حرکات، لگن باید در راستای طبیعی بوده و شیف‌ت طرفی پیدا نکرده یا دچار افزایش و کاهش قوس نشود. ران بیشتر از ۴۵ درجه خم شده و دچار اداکشن و چرخش داخلی نشود. زانو بیشتر از ۶۰ درجه خم شده و دچار اداکشن نشود. در لحظه فرود باید سه ثانیه مکث شود و فرود با حداقل حرکات جبرانی در بدن انجام شود. نشستن باید سه ثانیه بدون حداقل حرکت بدن حفظ شود. آزمونگر باید بازخورد زمان واقعی در رابطه با استراتژی فرود را به خصوص در مراحل اولیه برنامه که ورزشکار در حال آموزش این مهارت گسسته در داخل فاز تمرین مهارت بسته است، داشته باشد. مرحله ترکیب یک مرحله میانی است که در آن برخی عناصر تصادفی در قالب یک تمرین پرش-فرود با هم ادغام می

تحقیق حذف شدند. محقق در تمامی مراحل انجام تمرینات حضور داشت. در بخش آمار توصیفی از میانگین و انحراف استاندارد برای توصیف داده‌ها استفاده شد. با استفاده از آزمون شاپیروویلک نرمال بودن توزیع داده‌ها بررسی شد. از آزمون‌های تی زوجی برای مقایسه درون گروهی و برون گروهی استفاده شد. تجزیه و تحلیل اطلاعات در سطح معنی‌داری ۹۵٪ و میزان آلفای کوچکتر یا مساوی ۰/۰۵ و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام شده است. لازم به ذکر است که تعداد آزمودنی‌های تحقیق ۳۰ نفر بودند که پس از حذف ۵ آزمودنی در روند تحقیق، داده‌های ۲۵ آزمودنی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج آزمون شاپیروویلک بیانگر نرمال بودن کلیه داده‌های تحقیق بود. بنابراین از آزمون‌های آماری پارامتریک برای تحلیل آماری استفاده شد. میانگین و انحراف استاندارد فعالیت فیذووراردی و فیدبکی عضلات در پیش آزمون و پس آزمون گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: میانگین و انحراف استاندارد نمرات فعالیت فیذووراردی و فیدبکی عضلات در پیش آزمون و پس آزمون (واحد: درصدی از MVC می‌باشد).

عضلات	آماره متغیر	پیش آزمون		پس آزمون	
		گروه تجربی (N=۱۳)	گروه کنترل (N=۱۲)	گروه تجربی (N=۱۳)	گروه کنترل (N=۱۲)
واستوس-مدیالیس	فعالیت	۲۸/۹۲±۵/۷۸	۳۰/۵۸±۴/۸۸	۴۲/۹۲±۷/۷۹	۹۱/۴۲±۴/۵۶
	فیدوورارد	۳۲/۸۶±۹/۲۴	۳۴/۶۶±۸/۰۲	۴۷/۵۳±۱۰/۲۹	۴۱/۴۱±۹/۲۵
واستوس-لترالیس	فعالیت	۶۰±۴/۰۴	۶۴/۵۸±۵/۹۹	۴۸/۳۴±۴/۰۴	۵۸±۶/۲۱
	فیدوورارد	۶۹/۲۳±۶/۲۷	۶۶/۷۵±۷/۳۱	۴۷/۳۸±۶/۷۱	۵۵±۸/۲۴
رکتوس-فمورس	فعالیت	۷۸/۰۷±۸/۹۱	۷۳/۹۱±۷/۲۹	۶۷/۱۵±۹/۴۱	۲۵±۸/۲۲
	فیدوورارد	۸۳/۰۷±۹/۰۷	۸۰/۵۸±۴/۶۷	۶۶/۰۷±۷/۷۵	۷۵±۶/۴۷
مدیال-همسترینگ	فعالیت	۲۹/۲۳±۵/۳۳	۳۲/۱۶±۶/۶۸	۴۲/۹۲±۱۰/۶۴	۷۵±۶/۵۲
	فیدوورارد	۳۲/۴۶±۵/۱۷	۲۷/۷۵±۵/۷	۴۶/۵۳±۱۲/۱۸	۷۵±۷/۹۵
لترال-همسترینگ	فعالیت	۴۷±۱۳/۰۴	۵۸±۱۴/۴۵	۲۵/۶۱±۷/۸۲	±۱۴/۹۲
	فیدوورارد	۳۸±۱۸/۸۶	۹۱±۲۱/۰۲	۳۱±۱۳/۳۱	±۱۸/۶۹
گلوئوس-مدیوس	فعالیت	۲۳/۳۸±۴/۸۹	۲۵/۹۱±۷/۲۹	۳۲/۹۲±۵/۴۳	۵۸±۷/۷۸
	فیدوورارد	۲۶/۲۳±۸/۲۵	۲۹/۵۸±۸/۷۶	۳۷/۹۲±۱۲/۳۳	±۱۰/۷۸
گلوئوس-ماگزیموس	فعالیت	۱/۵±۱۱/۴۷	۸۳±۱۰/۷۶	۳۸/۵۳±۱۳/۹۶	۹۱±۸/۶
	فیدوورارد	۶۹±۱۱/۶۳	۲۳/۷۵±۱۰/۶	۴۵/۰۷±۲۰/۳۹	۰۸±۹/۹۳
فیدبکی	فعالیت	۲۸	۲۳	۴۵	۲۱

شود ولی این تمرینات همچنان با زنجیره‌ها یا فعالیت‌های کاملاً مشخصی انجام می‌شوند. در فاز ترکیب، ورزشکار تمرین مهارت زنجیره بسته را انجام می‌دهد اما در این حالت عنصر واکنشی مانند اشاره‌های گفتاری وجود دارد. ترکیب عناصر تصادفی‌تر در شرایط پرش یا فرود یک یا دو طرفه شامل دستورات شفاهی آزمونگر می‌باشد که ورزشکار به آن پاسخ می‌دهد. برای مثال، این عنصر تصادفی می‌تواند شامل پرش و فرود به چپ یا راست، یا جلو یا عقب در پاسخ به اشاره‌های گفتاری باشد. این عمل می‌تواند ارتقاء یافته و با پرش‌هایی با چرخش‌های ۹۰ یا ۱۸۰ درجه یا چرخش باسن در جهت عقربه‌های ساعت یا خلاف جهت عقربه‌های ساعت ترکیب شود، به طوری که عناصر یا درجه چرخش و جهت به طور تصادفی گفته می‌شود (توسط آزمونگر یا یک ورزشکار دیگر). پرش یا جهش و فرود از روی یک سری جعبه با ارتفاع مختلف در ترکیب با هم در جهت جلو، جانبی یا عقب بلافاصله پس از یک زنجیره و سپس با اشارات گفتاری مخصوص جهت می‌تواند مثال دیگری برای این تمرینات باشد. جامعه آماری این تحقیق زنان فعال بود. برای اجرای این تحقیق افرادی بعنوان آزمودنی انتخاب شدند که در هفته حداقل سه جلسه ۱/۵ ساعته به فعالیت بدنی منظم مشغول بودند. بدین منظور به کلاس‌های عملی مراجعه و هدف تحقیق و مراحل انجام تحقیق برای دانشجویان شرح داده شد. سپس از افراد خواسته شد تا در صورت تمایل برای انجام بررسی‌های اولیه در ساعات مشخص شده به آزمایشگاه مراجعه کنند. همچنین برای افراد شرح داده می‌شد که در هر زمان از مراحل انجام تحقیق در صورت عدم تمایل به ادامه همکاری می‌توانند انصراف دهند. همچنین برای انتخاب آزمودنی‌ها از فرم جمع‌آوری اطلاعات استفاده شد. این فرم شامل اطلاعاتی در ارتباط با ویژگی‌های شخصی (قد، وزن، سن، رشته ورزشی و سابقه بازی)، سابقه آسیب (مکانیسم آسیب و ناحیه‌ی درگیر در آسیب) و میزان فعالیت فیزیکی در هفته است. از اطلاعات موجود در فرم با توجه به معیارهای ورود تعیین شده برای انتخاب آزمودنی‌های تحقیق استفاده شد. پس از اطمینان از رعایت اخلاق در پژوهش و اخذ فرم رضایت نامه کتبی، افراد دارای شرایط ورود به تحقیق، مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از شناسایی، آزمودنی‌ها به دو گروه تمرین پرش-فرود و کنترل تقسیم‌بندی می‌شدند و از آنها پیش‌آزمون الکترومیوگرافی عضلات تنه و اندام تحتانی (زمانبندی و میزان فعالیت الکتریکی عضلات) حین فرود بر روی یک پا و عملکرد حرکتی به عمل می‌آمد. پس از انجام هشت هفته تمرین برای گروه تجربی، پس آزمون الکترومیوگرافی و سنجش عملکرد در شرایط اندازه‌گیری‌های پیش‌آزمون انجام گرفته و نتایج مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. لازم به ذکر است که در جریان تحقیق سه نفر از آزمودنی‌های گروه کنترل (عدم تکمیل پس آزمون) و دو نفر از گروه تجربی (غیبت در تمرینات) از

جدول ۲: نتایج آزمون تی زوجی برای مقایسه فعالیت فیدفوراردی از پیش آزمون به پس آزمون گروه تجربی و کنترل.

عضلات	پیش آزمون	پس آزمون	میزان T	معناداری
گروه تجربی (N=۱۳)				
واستوس - مدیالیس	۲۸/۹۲±۵/۷۸	۴۲/۹۲±۷/۷۹	-۱۰/۱۶۴	۰/۰۰۲*
واستوس - لترالیس	۶۰±۴/۰۴	۴۸/۲±۴/۰۴	۱/۷۲۲	۰/۰۰۱*
رکتوس - فمورس	۷۸/۰۷±۸/۹۱	۶۷/۱۵±۹/۴۱	۵/۸۷۷	۰/۰۰۴*
مدیال - همسترینگ	۲۹/۲۳±۵/۴۳	۴۲/۹۲±۱۰/۶۴	-۶/۲۱۱	۰/۰۰۱*
لترال - همسترینگ	۴۷±۱۳/۰۴	۲۵/۶۱±۷/۸۲	۷/۴۹۷	۰/۰۰۱*
گلوتئوس - مدیوس	۲۳/۳۸±۴/۸۹	۳۲/۹۲±۵/۴۳	-۱۳/۳۸۴	۰/۰۰۱*
گلوتئوس - ماگزیموس	۲۵/۱۵±۱۱/۴۷	۳۸/۵۳±۱۳/۹۶	-۵/۰۶۱	۰/۰۰۱*
گروه کنترل (N=۱۲)				
واستوس - مدیالیس	۳۰/۵۸±۴/۸۸	۲۷/۹۱±۴/۵۶	۱/۴۵۶	۰/۱۷۶
واستوس - لترالیس	۶۴/۵۸±۵/۹۹	۶۱/۵۸±۶/۲۱	۱/۱۵۸	۰/۲۷۴
رکتوس - فمورس	۷۳/۹۱±۷/۲۹	۷۷/۲۵±۸/۲۲	-۰/۲۷۶	۰/۸۷۸
مدیال - همسترینگ	۳۲/۱۶±۶/۶۸	۳۰/۸۵±۶/۵۲	۱/۹۸۴	۰/۰۷۵
لترال - همسترینگ	۴۵/۵۸±۱۴/۴۵	۴۷/۴۱±۱۴/۹۲	-۱/۴۷۲	۰/۱۷۲
گلوتئوس - مدیوس	۲۵/۹۱±۷/۲۹	۲۳/۵۸±۷/۷۸	۱/۵۷۸	۰/۱۴۶
گلوتئوس - ماگزیموس	۱۹/۸۳±۱۰/۷۶	۱۶/۹۱±۸/۰۶	۱/۴۳۹	۰/۱۸۱

* نشان دهنده تغییر معنی دار از پیش آزمون به پس آزمون

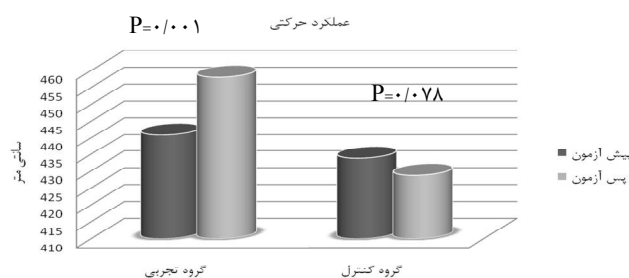
بررسی اثر تمرینات پرش - فرود بر میزان فعالیت فیدبکی عضلات

جدول ۳: نتایج آزمون تی زوجی برای مقایسه فعالیت فیدبکی از پیش آزمون به پس آزمون گروه تجربی و کنترل.

عضلات	پیش آزمون	پس آزمون	میزان T	معناداری
گروه تجربی (N=۱۳)				
واستوس - مدیالیس	۳۲/۸۶±۹/۲۴	۴۷/۵۳±۱۰/۲۹	-۷/۵۴۲	۰/۰۰۱*
واستوس - لترالیس	۶۹/۲۳±۶/۲۷	۴۷/۳۸±۶/۸۱	۸/۲۸۳	۰/۰۲۱*
رکتوس - فمورس	۸۳/۰۷±۹/۰۷	۶۶/۰۷±۷/۷۵	۷/۸۲	۰/۰۰۱*
مدیال - همسترینگ	۳۲/۴۶±۵/۱۷	۴۶/۵۳±۱۲/۱۸	-۵/۴۲۴	۰/۰۰۱*
لترال - همسترینگ	۵۱/۳۸±۱۸/۸۶	۳۱±۱۳/۳۱	۶/۶۹۳	۰/۰۳۴*
گلوتئوس - مدیوس	۲۶/۲۳±۸/۲۵	۳۷/۹۲±۱۲/۳۳	-۸/۳۹۳	۰/۰۰۱*
گلوتئوس - ماگزیموس	۲۸/۶۹±۱۱/۶۳	۴۵/۰۷±۲۰/۳۹	-۴/۸۳۱	۰/۰۰۱*
گروه کنترل (N=۱۲)				
واستوس - مدیالیس	۳۴/۶۶±۸/۰۲	۳۴/۴۱±۹/۲۵	۰/۳۱۷	۰/۸۵۷
واستوس - لترالیس	۶۶/۸۵±۷/۳۱	۶۳/۵۸±۸/۲۴	۱/۸۹۲	۰/۱۰۱
رکتوس - فمورس	۸۰/۵۸±۴/۶۷	۸۲/۸۵±۶/۴۷	-۲/۲۶۶	۰/۸۹۵
مدیال - همسترینگ	۲۷/۸۵±۵/۷	۲۵/۸۵±۷/۹۵	۱/۰۲۴	۰/۳۲۸
لترال - همسترینگ	۵۰/۹۱±۲۱/۰۲	۵۱/۵۸±۱۸/۶۹	-۰/۳۶۵	۰/۸۷۲
گلوتئوس - مدیوس	۲۹/۵±۸/۷۶	۲۷/۶۶±۱۰/۸۸	۱/۸۸۲	۰/۱۰۲
گلوتئوس - ماگزیموس	۲۳/۸۵±۱۰/۶	۲۱/۰۸±۹/۹۳	۱/۱۲۶	۰/۲۸۴

* نشان دهنده تغییر معنی دار از پیش آزمون به پس آزمون

نتایج نشان داد که بعد از اجرای تمرینات پرش - فرود میزان فعالیت فیدفوراردی و فیدبکی واستوس مدیالیس، مدیال همسترینگ، گلوتئوس مدیوس و گلوتئوس ماگزیموس افزایش یافته اما فعالیت واستوس - لترالیس، رکتوس فمورس و لترال همسترینگ کاهش یافته است. نتایج آزمون تحلیل کواریانس در ارتباط با عملکرد حرکتی ($P=0/001$)، نشان داد که تفاوت بین دو گروه تجربی و کنترل معنی دار است.



شکل ۱: نتایج آزمون تی زوجی برای مقایسه نمرات عملکرد از پیش آزمون به پس آزمون در گروه تجربی و کنترل.
* نشان دهنده تغییر معنی دار از پیش آزمون به پس آزمون

بحث

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، تغییرات معنی داری در فعالیت فیدفوراردی عضلات مورد بررسی بعد از اجرای تمرینات پرش - فرود حاصل شده است که از این بین، فعالیت عضلات رکتوس - فمورس، لترال همسترینگ و واستوس لترالیس کاهش یافته ولی فعالیت عضلات گلوتئوس مدیوس، گلوتئوس ماگزیموس، واستوس مدیالیس و مدیال همسترینگ افزایش یافته است. همچنین تغییرات معنی داری در فعالیت فیدبکی عضلات بعد از اجرای تمرینات پرش - فرود حاصل شده است که فعالیت عضلات واستوس مدیالیس، مدیال همسترینگ، و گلوتئالها افزایش یافته اما فعالیت لترال همسترینگ، واستوس لترالیس و رکتوس - فمورس کاهش یافته است. نتایج این بخش از تحقیق با یافته‌های Hanson و همکاران و در برخی از متغیرها با یافته‌های هارد و همکاران همخوانی دارد اما از برخی جهات دیگر با یافته‌های Hurd و همکاران ناهمخوان است (۱۳، ۱۲). از علت‌های ناهمخوان بودن یافته‌ها می‌توان به طول مدت تمرینات و شرایط آمادگی آزمودنی‌ها اشاره کرد. میزان فعالیت بالای عضلات رکتوس فمورس، واستوس لترالیس و لترال همسترینگ قبل از اجرای تمرینات بیشتر و در برخی بسیار بالا بود، بنابراین به نظر می‌رسد آزمودنی‌های مورد بررسی به طرز نامناسبی زانو را ثابت داده و در واقع از استراتژی ثابت دهنده ناکامل (Immature Stabilization strategy) استفاده می‌کردند. کم کردن درجات آزادی (Degree of Freedom) بعنوان استراتژی اولیه هنگام مهارت پیدا کردن در یک تکلیف جدید است (۱۱). افراد دارای نقص در فعالیت عضلات باید در ثبات دادن به زانوی خود (در نبود محدود کننده دینامیک و فیدبک‌های آوران فراهم شده بوسیله ACL سالم)

مهارت کسب کنند (۱۱). برای انجام حرکاتی مانند راه رفتن نیازی به سفت کردن شدید مفصل زانو نیست و انجام سفتی شدید در زانو حین راه رفتن، نوعی صدمه‌زایی محسوب می‌شود. در اجرای حرکاتی که احتمال ایجاد آسیب در آن شرایط برای ACL وجود دارد، فرد باید مفصل زانو را در حد مورد نیاز سفت کند تا ثبات لازم به مفصل برگردد (۲۳). فعال‌شدن فیدفوراردی عضله، احتمال دارد فعالیت فیدبکی آن را نیز بهبود ببخشد که این عمل بوسیله حرکات سریع انجام شده و می‌تواند خطر بروز آسیب ACL را به کمک دوک عضلانی کاهش دهد. هر چند نتایج آزمون تی زوجی نشان داد که هم فعالیت فیدفوراردی و هم فعالیت فیدبکی عضله لترال همسترینگ کاهش یافته است. با توجه به اینکه برای اجرای یک حرکت ایمن در مفصلی مانند زانو، نیاز است که عضلات فلکسور و اکستنسور هر کدام برای اجرای حرکت مربوط به خود، دارای انقباض متعادل باشند (بطور مثال عضلات مدیال و لترال همسترینگ برای خم کردن زانو بطور متعادل وارد عمل شوند) (۲۴) تا اینکه از بروز حرکات اضافی (والگوس زانو) در حین انجام حرکت مشخص (فلکشن زانو) جلوگیری شود. بنابراین شاید کاهش فعالیت لترال همسترینگ از طرفی در متعادل کردن فعالیت عضلات فلکسور زانو و از طرف دیگر جلوگیری از والگوس زانو ضروری باشد (۱۲). از بین عضلات مورد بررسی، عضله مدیال همسترینگ، گلوئوس مدیوس و ماگزیموس بعلت اینکه بعد از اجرای پرش-فرود فیدفوراردی شده‌اند. یعنی اینکه زمانی که این عضله بصورت فیدفوراردی وارد عمل می‌شوند در مقابل حرکات غیرمنتظره مقاومت کرده و حرکت مناسب توسط آن هدایت می‌شود و شاید نیازی نباشد که فعالیت فیدبکی بیشتری از خود نشان دهند. در حرکاتی که عضلات کوادریپس بصورت اکستریک منقبض می‌شوند، باید به همان نسبت منتظر ترانسلیشن قدامی تیبا باشیم که این حرکت منجر به آسیب ACL می‌گردد. بنابراین بعد از تماس پا با زمین در حرکت فرود، انقباض اکستریک کوادریپس شروع می‌شود، در این حین نیاز است برخی از عوامل کنترل‌کننده ترانسلیشن قدامی تیبا وارد عمل شده و جلوی آسیب دیدگی ACL را بگیرند که در این میان و بر طبق یافته‌های تحقیق می‌توان به فعالیت مناسب مدیال همسترینگ اشاره کرد که با هم انقباضی مناسب با عضله واستوس مدیالیس تا حدودی این نقص (ترانسلیشن قدامی تیبا) را کنترل می‌کند (۱۱). تمرینات پرش-فرود، احتمالاً مسیرهای آوران را تحریک کرده تا اطلاعات مناسب را در اختیار دوک عضلانی قرار دهند (۱۲). افزایش حساسیت دوک عضلانی منجر به آمادگی سطح بالای عضلات در پاسخ به نیروهای مخرب می‌شود (۱۲). نتایج این بخش از تحقیق در برخی موارد با نتایج Hurd و همکاران همخوانی دارد آنها نیز عنوان کرده‌اند بعد از اجرای تمرینات اغتشاشی، میزان فعالیت مدیال همسترینگ افزایش یافته ولی میزان فعالیت لترال همسترینگ

کاهش پیدا می‌کند (۱۲). شاید یکی از مزیت‌های مهم تمرینات پرش-فرود این باشد که فرد را آرام آرام در شرایط مشابه شرایط واقعی آسیب قرار می‌دهد. یعنی اینکه با قرار دادن زانو در زوایا و موقعیت‌های مختلف، سعی می‌کند که بی‌ثبات کردن تدریجی را برای زانو فراهم کند که در این شرایط فرد یاد می‌گیرد که پاسخ-های عضلانی مناسب را به نمایش بگذارد (۱۱). بنابراین فرد یاد می‌گیرد که در موقعیت‌های خاص هم انقباضی مناسب را نشان دهد (نه هر موقعیتی). بخاطر اینکه هم انقباضی دائمی در اجرای حرکات، خود یک صدمه محسوب می‌شود. این احتمال می‌رود که کاهش فعالیت رکتوس فموریس و واستوس لترالیس و افزایش فعالیت عضلات همسترینگ و گلوئال در پس آزمون یک رویکرد مناسب برای بهبود ثبات زانو بوسیله افزایش سفتی مفصلی و محدود کردن نیروهای وارده به ACL باشد. بنابراین با توجه به مواردی که عنوان شد نتایج تحقیق ما در راستای تحقیقات انجام شده در این زمینه، یک استراتژی مهم دیگر را نیز برای پیشگیری آسیب ACL معرفی می‌کند و آن حفظ فعالیت عضلات همسترینگ و گلوئال در حین مانورهای آسیب‌زا برای لیگامان ACL مانند فرود بر روی یک پا می‌باشد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که انجام تمرینات پرش-فرود منجر به بهبود عملکرد حرکتی زنان فعال می‌شود. تاثیر تمرینات پیشگیرانه مختلفی بر روش‌های مختلف (با استفاده از آزمون‌های متنوع) بر عملکرد حرکتی بخوبی افراد در تحقیقات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. فاکتورهای عملکرد حرکتی مورد بررسی قرار گرفته در تحقیقات گذشته شامل ارتفاع پرش عمودی، سرعت، قدرت ایزوکینتیک اندام تحتانی، تقارن در اجرای آزمون‌های هاپینگ (hopping)، تخمین حداکثر توان هوازی، چابکی، قدرت عضلات ران و تکلیف‌های ورزشی ویژه هستند. در تحقیقات مداخله‌ای مختلف، افزایش معناداری در عملکرد ورزشی مشاهده شده است. در سال‌های اخیر، مریدان از آزمون‌های هاپینگ بعنوان ابزار ارزیابی توانایی عملکردی ورزشکاران استفاده کرده‌اند. آزمون‌های هاپینگ جهت شناسایی نقص‌های افزایش دهنده خطر آسیب استفاده شده است. نقص‌های حرکتی که خطر آسیب را افزایش می‌دهد، از لحاظ تئوری می‌توانند بر عملکرد ورزشی تاثیر بگذارند. این ارتباط می‌تواند ارزش زیادی برای ورزشکاران بعنوان اصلاح ناکارآمدی حرکتی شناسایی شده بوسیله آزمون‌های هاپینگ داشته باشد (۲۵). نقص در کنترل عصبی عضلانی نقش مهمی در خطر آسیب دیدگی بازی می‌کند. این متغیرها از عوامل قابل اصلاح هستند. کاهش کنترل عصبی عضلانی تنه و اندام تحتانی در زنان احتمال وضعیت والگوس در اندام تحتانی را افزایش می‌دهد و احتمال آسیب لیگامان صلیبی قدامی را بالا می‌برد. شناسایی این ایمبالانس-های عصبی عضلانی (neuromuscular imbalances) هم می‌تواند در شناسایی و غربالگری ورزشکاران در معرض خطر آسیب

دیدگی کمک نماید و هم می‌تواند در طراحی تمرینات مداخله‌ای برای نقص‌های ویژه مورد استفاده قرار بگیرد (۲۶). همچنین نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که هشت هفته تمرینات پرش - فرود در گروه تجربی بر آزمون هایپنگ، تاثیر معناداری داشته است. آزمون‌های لی لی از آزمون‌های عملکردی، که بر اساس گزارش‌ها نیازمند قدرت، توان، و ثبات پوسچرال در هنگام اجرا می‌باشد. آزمون عملکردی لی لی، نیاز به قدرت عضلانی، هماهنگی عصبی - عضلانی، و ثبات مفصلی در اندام تحتانی را گزارش می‌کند. در جوامع سالم، آزمون‌های عملکردی می‌تواند برای شناسایی تقارن یا ضعف اندام غیر طبیعی استفاده شود و بدلیل اینکه نیازمند حداقل زمان و لوازم می‌باشد به عنوان یک ابزار کلینیکی مفید در نظر گرفته می‌شود (۲۷). Hamilton در مطالعه خود، آزمون لی لی سه گانه را به عنوان یک پیش‌بینی کننده قوی و مثبت در عملکرد آزمون‌های قدرت و توان معرفی می‌کند. آزمون لی لی تک پا به عنوان یک تست عملکردی در نظر گرفته شده و در منابع مختلف در تعیین آمادگی برای شرکت در فعالیت، مفید گزارش شده است. آزمون لی لی تک پا به طور عمومی به عنوان معیار عملکرد، و در ارزیابی پیش‌بین در برنامه‌های بازتوانی زانو، و به طور خاص در افرادی که در دوره نقاهت پس از جراحی لیگامنت صلیبی قدامی می‌باشند، استفاده می‌شود. آزمون لی لی زیگزاگ با حساسیت ۸۸٪ در شناسایی و پیش بینی عملکرد زانو در محدوده نرمال، بسیار دقیق می‌باشد. آزمون لی لی زیگزاگ به عنوان طاقست فرستارین آزمون لی لی است که نیرو را در صفحه عرضی و فرونتال در ترکیب با چند لی لی در صفحه ساجیتال تحمیل می‌کند (۲۷ و ۲۸). نتایج این یافته‌ها با نتایج حاصل از مطالعه Marina و همکاران (که به بررسی تاثیر شش هفته تمرینات مقاومتی روی عملکرد پریدن ژیمناست های ۱۳-۱۰ ساله پرداختند)، (۲۸) همچنین با نتایج مطالعه Raj, Abbasi و همکاران همخوانی داشت (۲۹ و ۳۰). Marina در مطالعه خود بیان می‌کند که هر دو نوع تمرینات مقاومتی اختصاصی و غیر اختصاصی در عملکرد پریدن ژیمناست‌های ریتیمیک تاثیر معناداری داشته است و با یک افزایش ۶-۷٪ در قدرت اندام تحتانی همراه بوده و تست لی لی (که سفتی و ثبات پا را ارزیابی می‌کند)، بعد از تمرینات مقاومتی غیر اختصاصی بهبود پیدا می‌کند. در مطالعه Marina و همکاران عنوان شد که استفاده از تمرینات پلايومتریک باعث افزایش ثبات زانو می‌شود حتی اگر بهبود معناداری در عملکرد، اتفاق نیفتد. همچنین پیشرفت کم و اما معناداری در ارتفاع پرش عمودی بدست آمد (۲۸). از بین بخش‌های مختلف بدن، اندام تحتانی در معرض صدمات ورزشی بیشتری بوده که از جمله شایع‌ترین این آسیب‌ها می‌توان به پارگی لیگامان صلیبی قدامی اشاره کرد (۲۹). از آزمون‌های عملکردی پیشگوی این آسیب، آزمون لی لی می‌باشد که ثبات و سفتی مفصل زانو را نمایان می‌سازد (۲۸).

تمرینات پرش-فرود احتمالا با تاثیرگذاری زمانبندی و میزان فعالیت عضلات به اندام‌ها این امکان را می‌دهد که در حین انجام حرکات مختلف در محدوده لازم، تحرک داشته باشد و از آسیب-هایی که به دلیل تاخیر در فعالیت عضلات، میزان فعالیت کم در برخی عضلات و فعالیت بیشتر در برخی دیگر از عضلات (ایمبالانس زمانبندی و میزان فعالیت)، محدودیت دامنه حرکتی و کوتاهی عضلات بوجود می‌آید جلوگیری کند. تمرینات پرش-فرود همچنین از تمرینات ثبات دهنده مرکزی نیز برخوردار است و احتمالا این تمرینات با ایجاد ثبات پوسچرالی که برای فرد به وجود می‌آورند به فرد این امکان را می‌دهند که در آزمون‌های عملکردی از شرایط و نتیجه بهتری برخوردار شود. تمرینات ناحیه مرکزی تنه کارایی سیستم عصبی عضلانی را بهبود می‌بخشد که موجب حرکت مطلوب مفاصل کمر، لگن و ران در طول زنجیره حرکتی عملکردی، شتاب گیری یا کاهش شتاب مناسب، تعادل عضلانی مناسب، تقویت ثبات پروگزیمال و قدرت عملکردی می‌شود. این اثرات منجر به عملکرد مطلوب و افزایش قدرت عضلات اندام تحتانی می‌شود که می‌تواند تثبیت مفاصل را مناسب‌تر انجام دهد و در نهایت احتمال خطر وقوع آسیب در اندام تحتانی را کاهش دهد (۳۰). در این تحقیق بعلاوه وجود برخی محدودیت‌ها، ما برای اندازه‌گیری داده‌های الکترومیوگرافیک از فرود بر روی یک پا و برای جمع‌آوری یافته‌های عملکرد حرکتی از لی لی سه گانه استفاده شد که پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده سعی شود که علاوه بر استفاده از سیستم آنالیز حرکتی، صفحه نیرو، تکلیف مشابه برای جمع‌آوری داده‌های کینتیک و کینماتیک استفاده شود. فعالیت عضلات همسترینگ و کوادریسپس، الگوهای فیدفوراردی مناسب را برای کنترل حرکت و وضعیت مفصل و نیز ثبات دینامیک زانو در مانورهای آسیب‌زا فراخوانی می‌کند.

نتیجه گیری

با توجه به موارد عنوان شده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تمرینات پرش-فرود با تعدیل و بهینه کردن میزان فعالیت عضلات ثبات‌دهنده زانو، از طرفی بهبود عملکرد حرکتی افراد احتمالا می‌تواند نقش مهمی در کاهش آسیب‌دیدگی ACL در زنان فعال داشته باشند. نتایج نشان داد که انجام هشت هفته تمرینات پرش-فرود منجر به عملکرد حرکتی افراد می‌شود. با توجه به اینکه افزایش عملکرد حرکتی باعث کاهش آسیب دیدگی می‌شود بنابراین با توجه به این نتایج استفاده از تمرینات پرش-فرود در زنان فعال جهت بهینه کردن عملکرد حرکتی و کاهش خطر آسیب ACL پیشنهاد می‌شود.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر برگرفته شده از نتایج پایان نامه کارشناسی ارشد به شماره ۲۳۹۳۴ می باشد. بدینوسیله نویسندگان مقاله از کلیه شرکت کنندگان در این تحقیق، کمال تشکر را دارند.

منابع مالی

منابع مالی ندارد.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می دارد که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

ا.ل و م.ح طراحی، ل.ک و ا.ل اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشت. همچنین ا.ل و ل.ک مقاله را تالیف نموده و ا.ل نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

References

1. Yu B, Garrett WE. Mechanisms of non-contact ACL injuries. *Br J Sports Med* 2007; **41**(1): 47-51. doi: 10.1136/bjism.2007.037192
2. Hewett TE, Ford KR, Hoogenboom BJ, Myer GD. understanding and preventing ACL injuries: current biomechanical and epidemiologic consideration- update 2010. *North Am J Sports Phys Ther* 2010; **5**(4): 234-251. doi: 10.3928/19425864-20101222-08
3. Letafatkar A, Rajabi R, Ebrahimi E, Minoonejad H. Effects of perturbation training on knee flexion angle and quadriceps to hamstring cocontraction of female athletes with quadriceps dominance deficit: pre-post intervention study. *The knee* 2015; **22**: 230-236.
4. Feiffer RP, Shea KG, Roberts D. Lack of effect of a knee ligament injury prevention program on the incidence of noncontact anterior cruciate ligament injury. *J Bone Joint Surg Am* 2006; **88**(8): 1769-1774. doi: 10.2106/00004623-200608000-00012
5. Zebis MK, Andersen LL, Brandt M, Myklebust G, Bencke J, Lauridsen HB. Effects of evidence-based prevention training on neuromuscular and biomechanical risk factors for ACL injury in adolescent female athletes: a randomised controlled trial. *Br J Sports Med* 2015; **50**(9): 552-557. doi: 10.1136/bjsports-2015-094776
6. Chappell JD, Creighton RA. Kinematics and electromyography of landing preparation in vertical stop-jump: risks for noncontact anterior cruciate ligament injury. *Am J Sports Med*, 2007; **35**(2): 235-241. doi: 10.1177/0363546506294077
7. Sell TC, Ferris CM. Predictors of proximal tibia anterior shear force during a vertical stop-jump. *J Orthop Res* 2007; **25**(12): 1589-1597. doi: 10.1002/jor.20459
8. Lephart SM, Abt JP, Ferris CM. Neuromuscular and biomechanical characteristic changes in high school athletes: a plyometric versus basic resistance program. *Br J Sports Med* 2005; **39**: 932-938. doi: 10.1136/bjism.2005.019083
9. Myer GD, Ford KR, McLean SG. The effects of plyometric versus dynamic stabilization and balance training on lower extremity biomechanics. *Am J Sports Med* 2006; **34**: 445-455. doi: 10.1136/bjism.2005.019083
10. Onate JA, Guskiewicz KM, Marshall SW. Instruction of jump landing technique using videotape feedback. *Am J Sports Med*, 2005; **33**(6): 831-842. doi: 10.1177/0363546504271499
11. Chmielewski TL, Hurd WJ, Rudolph KS, Axe MJ, and Snyder ML. Perturbation training improves knee kinematics and reduces muscle cocontraction after complete unilateral anterior cruciate ligament rupture. *Phys ther* 2005; **85**: 740-749. doi: 10.1093/ptj/85.8.740
12. Hurd WJ, Chmielewski TL, Mackler LS. Perturbation-enhanced neuromuscular training alters muscle activity in female athletes. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2006; **14**: 60-69. doi: 10.1007/s00167-005-0624-y
13. Hanson AM, Padua DA, Blackburn JT, Prentice WE, Hirth CJ. Muscle Activation during Side-Step Cutting Maneuvers in Male and Female Soccer Athletes. *J Athl Train* 2008; **43**(2): 133-143. doi: 10.4085/1062-6050-43.2.133
14. Kong P, Burns S. Bilateral difference in hamstrings to quadriceps ratio in healthy males and females. *Phys Ther Sport* 2010; **11**(1): 7-12. doi: 10.1016/j.ptsp.2009.09.004
15. Alentorn-Geli E, Myer G, Silvers H, Samitier G, Romero D. Prevention of non-contact anterior cruciate ligament injuries in soccer players. Part 1: Mechanisms of injury and underlying risk factors. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2009; **17**: 705-729. doi: 10.1007/s00167-009-0813-1
16. Monajati A, Larumbe-Zabala E, Goss-Sampson M, Naclerio F. The Effectiveness of Injury Prevention Programs to Modify Risk Factors for Non-Contact Anterior Cruciate Ligament and Hamstring Injuries in Uninjured Team Sports Athletes: A Systematic Review. *PLoS One* 2016; **11**(5): 1-15. doi: 10.1371/journal.pone.0155272
17. Blackburn JT, Norcross MF. The effects of isometric and isotonic training on hamstring stiffness and anterior cruciate ligament loading mechanisms. *Electromyography & Kinesiology* 2014; **24**: 98-103. doi: 10.1016/j.jelekin.2013.10.010

18. Tik-Pui Fong D, Lam M, Lai P, Shu-Hang Yung P, Fung KY, Chan KM. Effect of anticipation on knee kinematics during a stop-jump task. *Gait & Posture* 2014; **39**: 75-79. doi: 10.1016/j.gaitpost.2013.05.027
19. Gheidi N, Sadeghi H. ACL injury prevention programs due to intrinsic and modifiable risk factors in female athletes. *J Rehab Med* 2014; **3**(3): 89-108. doi: 10.29328/journal.jsmt.1001002
20. Fuller C, Dick R, Corlette J, Schmalz R. Comparison of the incidence, nature and cause of injuries sustained on grass and new generation artificial turf by male and female football players. Part 2: training injuries. *Br J Sports Med* 2007; **41**(1): 27-32. doi: 10.1136/bjsm.2007.037275
21. Ebben WP, Garceau LR, Hsu BE, Lutsch BN, Feldmann CR. Gender-Based Analysis of Hamstring and Quadriceps Muscle Activation During Jump- Landings and Cutting. *Streng & Condition Res* 2010; **24**(2): 408-415. doi: 10.1519/jsc.0b013e3181c509f4
22. Herrington LC, Comfort P. Training for Prevention of ACL Injury: Incorporation of Progressive Landing Skill Challenges Into a Program. *Streng & Condition* 2013; **35**(6): 59-65. doi: 10.1519/ssc.0000000000000013
23. Letafatkar A, Rajabi R, Ebrahimi E, Minoonejad H. Effects of perturbation training on quadriceps to hamstring electromyographic ratios. *Koomesh* 2014; **4**(52): 469-481. (Persian).
24. Shinkle J, Nesser TW, Demchak TJ, McMannus DM. Effect of core strength on the measure of power in the extremities. *Strength & Cond Res* 2012; **26**: 373-380. doi: 10.1519/jsc.0b013e31822600e5
25. Cook E, Burton L, Hogenboom B. The use of fundamental movements as an assessment of function- part 1. *North Am J Sports Phys Ther* 2006; **1**(2): 62-72. doi: 10.2519/jospt.2006.2160
26. Filipa A, Byrnes R, Paterno MV. Neuromuscular training improves performance on the star excursion balance test in young female athletes. *J Orthop Sports Phys Ther* 2010; **40**(9): 551-558. doi: 10.2519/jospt.2010.3325
27. Hamilton R. Single-leg Triple Hop Test as a Predictor of Lower Limb Strength, Power, and Balance. 2006. Directed by Dr. Sandra J. Shultz 77 pp.
28. Marina P, Claudia B, Giovanni F, Giovanni I. Effects of resistance training on jumping performance in pre-adolescent rhythmic gymnasts: a randomized controlled study. *Italia j anatomy & embryol* 2014; **119**(1): 10-19. doi: 10.1016/j.humov.2014.10.001
29. Abbasi A. Effects of in-season short-term plyometric training on jumping and agility performance of basketball players. *Sport Sci Health* 2013; **9**: 133-137.
30. Raj K, Harish K. Effect of Six-Weeks of Plyometric Circuit Training on the Jumping performance of Female College Player. *Exerc Sci & Physiother* 2005; **1**(1): 46-59. doi: 10.15282/mohe.v7i2.236.s85

Original Article

The associations between 5-HTTLPR polymorphism of SLC6A4 gene and autistic disorder in North West of Iran

Sima Mansouri Derakhshan¹ , Farzad Taheri², Shahrokh Amiri¹, Liela Shekari Khanian³,
Mahmoud Shekari Khanian^{*1&4} 

¹Research Center of Psychiatry and Behavioral Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

²Department of Biology, School of Basic Sciences, Ahar Branch Islamic Azad University, Iran.

³Ministry of Education, Tabriz, Iran.

⁴Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

*Corresponding author; E-mail: Mahmoud.khaniani@gmail.com

Received: 4 July 2018 Accepted: 31 July 2018 First Published online: 13 December 2018

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):83-90

Abstract

Background: The serotonin transporter protein (SLC6A4) transports the neurotransmitter serotonin from synapses to presynaptic neurons. The serotonin system has been studied in many behavioural and physiological conditions. Variation of SLC6A4 gene is known to modulate its expression. In this study, the association of various alleles of 5-HTTLPR polymorphism of *SLC6A4* gene with Autistic disorder was investigated.

Methods: In this study 78 samples of patients with Autistic disorder and 100 healthy controls from Iranian Azeri Turkish population were recruited. 5-HTTLPR polymorphisms were genotyped by Long Range PCR method.

Results: All statistical analyses showed no significant correlation of the genotypes and alleles of 5-HTTLPR polymorphism of *SLC6A4* gene between case and control groups ($P > 0.05$).

Conclusion: This study revealed there is no association between the 5-HTTLPR polymorphism of the *SLC6A4* gene and autistic disorders in the northwest of the Iranian population.

Keywords: Autistic disorder, 5-HTTLPR polymorphism, *SLC6A4* gene

How to cite this article: Mansouri Derakhshan S, Taheri F, Amiri Sh, Shekari Khanian L, Shekari Khanian M. [The associations between 5-HTTLPR polymorphism of SLC6A4 gene and autistic disorder in North West of Iran]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):83-90. Persian.

مقاله پژوهشی

ارتباط پلی مورفیسم 5-HTTLPR ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک در شمال غرب ایران

سیما منصوری درخشان^۱، فرزاد طاهری^۲، شاهرخ امیری^۱، لیلا شکاری خانیانی^۲، محمود شکاری خانیانی^{۱*} ^۱مرکز تحقیقات روانپزشکی و علوم رفتاری، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران^۲گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران^۳وزارت آموزش و پرورش، تبریز، ایران^۴گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسوول؛ ایمیل: Mahmoud.khaniani@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۷/۴/۱۳ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۹ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. آذر و دی ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۸۳-۹۰

چکیده

زمینه: محصول پروتئینی ژن SLC6A4 سروتونین را از فضای سیناپتیک، به فضای پیش سیناپتیک نورون ها منتقل می کند. بعضی از پلی مورفیسم های این ژن منجر به ایجاد حالت های متفاوتی از بیان ژن و سستز پروتئین می شوند و از این طریق نقش مهمی در میزان جذب سروتونین دارند. ارتباط آلل های مختلف پلی مورفیسم های این ژن با انواع بیماری های روانپزشکی مانند اضطراب منتشر، فوبی اجتماعی، و اختلال اوتیستیک گزارش شده است در این مطالعه برای اولین بار در شمال غرب ایران ارتباط آلل های مختلف پلی مورفیسم 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد ترک آذری بررسی شد.

روش کار: در این مطالعه مقایسه ای- تحلیلی ۷۸ بیمار مبتلا به اختلال اوتیستیک و ۱۰۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل از نژاد ترک آذری از جمعیت شمال غرب ایران مورد بررسی قرار گرفت. تمام بیماران و نمونه های کنترل از نظر سنی، جنسیت و نژاد همسان بودند. پلی مورفیسم فوق الذکر با استفاده از روش Long Range PCR ژنوتایپ شد.

یافته ها: مقایسه توزیع آلل ها و ژنوتایپ های مختلف پلی مورفیسم 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 در جمعیت کنترل و بیمار با روشهای آماری مختلف در همه موارد $P > 0.05$ را نشان داد.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد ارتباط معنی داری بین آلل های مختلف پلی مورفیسم 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد ترک آذری وجود ندارد.

کلیدواژه ها: اختلال اوتیستیک، پلی مورفیسم 5-HTTLPR، ژن SLC6A4

نحوه استناد به این مقاله: منصوری درخشان س، طاهری ف، امیری ش، شکاری خانیانی ل، محمود شکاری خانیانی م. ارتباط پلی مورفیسم 5-HTTLPR ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک در شمال غرب ایران. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۸۳-۹۰

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کریئو کامنز () منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

اختلال اوتیستیک (در خودماندگی) یک اختلال رشدی مغز است که بوسیله آسیب در تقابلات اجتماعی و ارتباط و همچنین رفتارهای تکراری و ویژه تقسیم بندی می شود؛ این علائم پیش از سه سالگی کودک ایجاد می شود. بر اساس DSM-IV-TR معیارهای تشخیص اختلال اوتیستیک شامل این موارد هستند: اختلال کیفی در تعامل های اجتماعی، ناتوانی در ایجاد روابط با همسالان به تناسب سطح رشدی، فقدان تقابل هیجانی یا اجتماعی، اختلال ارتباطی، چسبندگی ظاهراً انعطاف ناپذیر به عادت ها و اعمال حرکتی قالبی و تکراری. هنری مودزلی در سال ۱۸۶۷ نخستین بار این اختلال توصیف کرد و در سال ۱۹۴۳ توسط لئوکانر به نام اختلال در خودماندگی شرح داده شد (۱).

اختلال اوتیستیک یک بیماری هتروژن بوده و درباره سبب شناسی این اختلال عوامل مختلف ایمنی شناختی، عوامل پیش از تولد، عوامل نورواناتومیک، محیطی و ژنتیکی در رابطه با این بیماری ذکر شده است. عدم وجود یک حالت مندلی شفاف و بروز بیماری در خواهران و برادران شاخص مثبتی است که نشان می دهد اوتیسم یک اختلال چند لوکوسی با ژنهای بسیار می باشد که چندین ژن مستعد در تعامل با یکدیگر با یک حالت پیچیده از وراثت منجر به فنوتیپ اوتیسم می شوند (۱).

محققان تغییر در بسیاری از ژن ها را عامل بروز اختلال اوتیستیک می دانند. بیشتر ژنهایی که باعث بروز این بیماری می شوند تنها تاثیر کمی در ایجاد این بیماری داشته و به طور کلی بر هم کنش آن ها با سایر ژن ها یا برخی از فاکتورهای محیطی، تعیین کننده ی نهایی ابتلای یک فرد به اختلال اوتیستیک می باشد. بیشتر ژن های کاندید شناخته شده در این زمینه، در تکوین و عملکرد عصبی نقش دارند. با این وجود برای بیشتر ژن های کاندید شده، جهش دقیقی که باعث افزایش خطر ابتلای فرد می شود، شناسایی نشده است. به طور کلی از نقطه نظر ژنتیکی دو فرم اختلال اوتیستیک وجود دارد: فرم سندرمی و فرم غیر سندرمی. در فرم سندرمی فنوتیپ اختلال اوتیستیک بخشی از فنوتیپ گسترده اختلالات عصبی-تکاملی است. از جمله این فرم ها می توان به سندرم ایکس شکننده، سندرم رت و توبروس اسکروزیس اشاره کرد. در این فرم مبنای ژنتیکی بیماری از قبل شناخته شده است. برای مثال حدود ۱ تا ۳ درصد افراد ایکس شکننده فنوتیپ اختلال اوتیستیک را به عنوان بخشی از بیماری خود نمایش می دهند (۲). فرم غیر سندرمی فنوتیپ غالب در این اختلال است و سایر فنوتیپ های عصبی کمتر دیده می شود. مبنای ژنتیکی این مورد کمتر شناخته شده است و شامل (CNV (copy number variation (Single Neucleotide Polymorphisms) حذف ها و مضاعف شدگی ها ژن ها است (۳). ژن های فراوانی وجود دارند که تغییر در هر کدام از آن ها ممکن است باعث افزایش نسبی خطر

ابتلا به اختلال اوتیستیک به مقادیر مختلف شود. تعدادی از مهم ترین این ژن ها در جدول ۱ لیست شده اند (۴-۱).

جدول ۱: ژن های کاندید در بیماری اوتیسم

Genes	Loc
SLC6A4	17q11.2-17q12
RELN	7q22
GABR	15q11-15q13
NLGN	3q26(NLGN1), 17q13(NLGN2)
OXTR	3p24-3p25
MET	7q31.2
SLC25A12	2q31
GluR6	6q21
CNTNAP2	7q35
GLO1	6p21.3-6p21.2
TPH2	12q21.1
FMR1	Xq27.3

ژنهای RELIN و FMR1 از دهه قبل به عنوان ژنهای کاندید در ایجاد اختلال اوتیستیک و سایر اختلالات طیف اوتیسم مطرح هستند و تحقیقات متعددی در ارتباط اختلال اوتیستیک و این اختلالات انجام گرفته است (۵ و ۶).

سروتونین یا ۵-هیدروکسی تریپتامین (5-Hydroxytryptamine:5-HT) نوروترانسمیتری است که توسط دسته ای از نورون های سیستم عصبی مرکزی و سلول های انتروکرومافین دستگاه گوارش (روده) سنتز می شود و به عنوان یک ماده کلیدی تنظیم کننده در انواع اعمال روانشناختی، رفتاری و عملکردهای فیزیولوژیکی مانند خلق و خواب و اشتها تاثیر به سزایی دارد (۷). اخیراً نقش ژن SLC6A4 به عنوان یکی از ژن های دخیل در بعضی بیماری های روانپزشکی مانند افسردگی، اسکیزوفرنی و اضطراب گزارش شده است. طی بررسی ها و مطالعات مهم مشخص شده است که میزان سروتونین در اختلال اوتیستیک بالا بوده و از طرفی ژن SLC6A4 در میزان بیان سروتونین نقش ایفا می کند (۷) لذا این ژن به عنوان یک ژن کاندید برای اختلال اوتیستیک نیز انتخاب شده و تحقیقات گسترده ای در ارتباط این ژن با اختلال اوتیستیک در حال انجام است. محصول پروتئینی آن یعنی SERT یک انتقال دهنده ی سروتونین می باشد و به وسیله ژن SLC6A4 رمزگذاری می شود. این ناقل نورونی در سیستم عصبی یک تنظیم کننده ی کلیدی سطوح سروتونین در پایانه های نورونی سیناپسی و پس سیناپسی نورن های سروتونرژیک می باشد (۸). این ژن در لوکوس 17q11.2 قرار گرفته و از ۱۴ اگزون تشکیل شده است و ارتباط پلی مورفیسم های این ژن با بیماری های مختلف گزارش شده است. واریانت ۵-HTTLPR در ناحیه فرا دست پروموتور ژن دارای دو نوع ال ۵-HTTLPR ال بلند (Allele L) (حاوی ۴۴ نوکلئوتید اضافی) و کوتاه (Allele S) (بدون ۴۴ نوکلئوتید) می باشد (شکل ۲). این ژن پروتئینی با ۶۳۰ اسید آمینه است که به عنوان انتقال دهنده سروتونین عمل می کند. به دلیل طبیعت هتروژنی اختلالات طیف اوتیسم

PCR: برای ژنوتایپینگ پلی مورفیسم فوق‌الذکر واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، از کلرید منیزیم ($MgCl_2$) با غلظت نهایی ۱/۵ میلی‌مولار، بافر PCR با غلظت نهایی یک برابر، یک واحد آنزیم Taq پلیمراز، داکسی نوکلئوتیدتری فسفات ($dNTP$ (Triphosphate) Deoxynucleotide با غلظت نهایی ۰/۲ میلی‌مولار و غلظت نهایی ۰/۱ میلی‌مولار از هر کدام از پرایمرهای 3' GCCGTGCGCTCTGAATGCCA 5' 5-HTTLPR- F= 5-HTTLPR-GAGGGACTGAGCTGGACAACACAC 5' R=3' استفاده گردید. برنامه PCR برای تکثیر قطعه مورد نظر عبارت بود از: ۵ دقیقه واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی-گراد و سپس ۳۰ چرخه تکثیر هر چرخه شامل: ۳۰ ثانیه واسرشت سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه دمای اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه دمای طویل سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد. پس از انجام PCR قطعه مورد نظر بر روی ژل آگارز ۳ درصد الکتروفورز گردید و با استفاده از Safe Sine رنگ‌آمیزی شد و زیر اشعه‌ی التراویوله بررسی شد. پس از گردآوری داده‌ها و نتایج به دست آمده از PCR، تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار R نسخه (۰،۴،۳) با تجزیه و تحلیل رگرسیون لجستیک و آزمون کای‌دو انجام شد. فراوانی مربوط به هریک از ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها در گروه‌های مختلف با یکدیگر مقایسه شد و با استفاده از تعادل هاردی واینبرگ آنالیز تحلیلی انجام شد. در این مطالعه مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

در جمعیت بیمار فراوانی آللی و ژنوتیپی به وسیله‌ی نرم‌افزار R محاسبه شد که در این گروه از بین ۷۸ نفر ۲۱ نفر (۲۶/۹٪) دارای ژنوتیپ LL و ۴۳ نفر (۵۵/۱٪) دارای ژنوتیپ LS و ۱۴ نفر (۱۷/۹٪) دارای ژنوتیپ SS بودند، همچنین فراوانی آللی در این گروه برای آلل $L=0/544$ و برای آلل $S=0/456$ بود (جدول ۲). همچنین در جمعیت کنترل فراوانی آللی و ژنوتیپی نیز محاسبه شد که در این گروه از بین ۱۰۰ نفر ۳۵ نفر (۳۵٪) دارای ژنوتیپ LL ۴۲ نفر (۴۲٪) دارای ژنوتیپ LS و ۲۳ نفر (۲۳٪) دارای ژنوتیپ SS بودند و فراوانی آللی در این گروه برای آلل $L=0/5$ و برای آلل $S=0/5$ بود (جدول ۳).

برخی مطالعات ارتباط بین ژن SLC6A4 و اوتیسم را نشان داده‌اند. آلل S پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR بازدهی رونویسی mRNA مربوط به پیش برنده‌ی ژن SLC6A4 را کاهش می‌دهد که منجر به بیان اندک ژن شده و آن نیز باعث کاهش جذب سروتونین می‌شود و آلل L این پلی‌مورفیسم باعث بالا رفتن رونویسی و بیان بیشتر ژن SERT و افزایش سروتونین و جذب آن می‌شود (۸ و ۹). از آنجایی که ارتباط بین واریانت‌های ژن SLC6A4 و اختلال اوتیستیک در جمعیت ایران مورد بررسی قرار نگرفته است. در این مطالعه ارتباط آللهای مختلف پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR ژن SLC6A4 و اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد ترک آذری بررسی شد.

روش کار

بیماران پس از اخذ شرح حال دقیق و معاینه وضعیت روانی و بررسی رشد آنها براساس معیارهای بین المللی (DSM- IV-TR) توسط فوق تخصص روان‌پزشکی کودک و نوجوان به کلینیک ژنتیک معرفی شدند و بعد از مشاوره و توضیح اهداف آزمایش و امضاء رضایت‌نامه آگاهانه کتبی توسط والدین قانونی از بیماران خون گیری شد. این مطالعه در کمیته منطقه‌ای اخلاق در پژوهشهای علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به تصویب رسیده است (شماره تصویب ۵۷۴۴۱). بیماران مبتلا به سایر بیماری‌های عصبی روانی مانند اختلالات همبود روان‌پزشکی و جسمی و هم‌چنین مبتلایان به سندرم X شکننده که قبلاً مورد بررسی قرار گرفته بودند از مطالعه خارج شدند. ۷۸ بیمار پسر مبتلا به اختلال اوتیستیک با سنین کمتر از ۱۵ سالگی از نژاد ترک آذری از جمعیت شمال غرب ایران وارد مطالعه شدند و ۱۰۰ نفر پسر سالم با پیشرفت تحصیلی خوب و با سنین کمتر از ۱۵ سالگی از نژاد ترک آذری از جمعیت شمال غرب ایران به عنوان کنترل انتخاب شدند حدود ۳-۵ سی‌سی خون از ورید بازویی در شرایط استریل در لوله‌های حاوی Ethylen Di Amin Tetra Acetic Acid (EDTA) از بیماران و افراد کنترل تهیه شد.

بررسی مولکولی: DNA از نمونه خون بیماران و افراد کنترل به روش Solting-out استخراج شد. قطعه 5-HTTLPR و ژن SLC6A4 با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به روش Long Range PCR تکثیر شدند و دونوع ال پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR ال بلند (حاوی ۴۴ نوکلئوتید اضافی) و کوتاه (بدون ۴۴ نوکلئوتید) با استفاده از روش ژل‌آگاروز ۳ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۲: فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR در گروه بیمار

فراوانی ژنوتیپی (%)		فراوانی آللی	
SS	LS	LL	S
۱۴ (۱۷/۹)	۴۳ (۵۵/۱)	۲۱ (۲۶/۹)	۷۱ (۰/۴۶)
			L ۸۵ (۰/۵۴)

جدول ۳: فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم 5-HTTLPR در گروه کنترل

فرکانس ژنوتیپی (%)		فرکانس آللی		
SS	LS	LL	S	L
۲۳ (۰/۲۳)	۴۲ (۰/۴۲)	۳۵ (۰/۳۵)	۸۸ (۰/۴۴)	۱۱۲ (۰/۵۶)

داده‌ها از طریق مقایسه توزیع ژنوتیپ‌ها (آنالیز ژنوتیپی) بین دو گروه آنالیز شدند. آنالیز ژنوتیپی بوسیله رگرسیون و با در نظر گرفتن الگوهای توارث مختلف از جمله *Recessive*, *Dominant*, *codominant*, *Log-Additive* صورت گرفت.

مدل *codominant* (تست اول)

ژنوتیپ LL چون فراوانی بیشتری نسبت به ژنوتیپ SS دارد به عنوان ژنوتیپ رفرنس انتخاب شد، بنابراین ژنوتیپ‌های LS و SS نسبت به ژنوتیپ LL مقایسه می‌شوند. نسبت شانس (OR) LS در مقایسه با LL برابر است با $OR = 1/71$. به عبارتی می‌توان گفت افرادی ژنوتیپ LS دارند نسبت به افراد LL، به میزان ۱/۷۱ برابر خطر بیشتری برای ابتلا به بیماری دارند. در مقایسه ژنوتیپ SS با LL، میزان نسبت شانس ۱/۰۱ بدست آمد. از طرفی چون $P = 0/21932$ بدست آمد، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش اندک خطر ابتلا به بیماری در افراد SS نسبت به افراد LL از لحاظ آماری معنی‌دار نیست.

روش *Dominant* (تست دوم)

در این تست فرض بر این است که وجود یک آلل برای ابتلا به بیماری کافی است. در این تست آلل LL به عنوان مرجع در نظر گرفته شد و ژنوتیپ‌های LS و SS در یک گروه قرار گرفتند و با ژنوتیپ LL مقایسه شدند. نسبت شانس این مقایسه $OR = 1/46$ و $P = 0/24769$ بدست آمد که در این حالت افرادی که حداقل یک آلل S دارند با افرادی که ژنوتیپ LL دارند مقایسه می‌شوند ولی P نشان دهنده‌ی این بود که افزایش خطر مشاهده شده از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده و طبق این تست هم روی تغییر ریسک ابتلا به اختلال اوتیستیک اثری نداشت.

روش *Recessive* (تست سوم)

در این مدل فرض بر این است که حضور دو آلل برای بروز بیماری ضروری است پس در این حالت افرادی که دارای دو آلل

S هستند نسبت به افرادی که حداقل یک آلل L دارند مقایسه می‌شوند. یعنی در افراد با آلل SS که $OR = 0/73$ است ریسک بیمار شدن نسبت به افراد با آلل LL، LS کمتر است. در این تست هم $P = 0/40769$ بوده و بی‌معنی بود و روی تغییر ریسک ابتلا به اختلال اوتیستیک اثری نداشت.

روش *overdominant* (تست چهارم)

این تست نسبت به تست‌های قبلی تفسیر مهمی نداشت و نسبت به مدل‌های قبلی کم اهمیت‌تر است که در این مدل هتروزیگوت‌ها با مجموع هموزیگوت‌ها مقایسه می‌شوند. نسبت شانس این مقایسه $OR = 1/7$ و $P = 0/0815$ بدست آمد که نشان دهنده این است که افزایش خطر مشاهده شده از لحاظ آماری معنی‌دار نیست.

روش *log Additive* (تست پنجم)

در این مدل، تغییر ریسک ابتلا به بیماری افزایشی است به صورتی که نشان می‌دهد اضافه شدن هر آلل به میزان مشخصی ریسک ابتلا به بیماری را تغییر می‌دهد. این تست تا حدودی تست آماری را پوشش می‌دهد و دیگر به انجام تست آللی نیازی نیست. در این روش به صورت افزایشی با افزایش تعداد آلل ریسک بیماری تغییر پیدا می‌کند. در این مدل $OR = 1/06$ و $P = 0/77$ است که نشان می‌دهد پلی مورفیسم 5-HTTLPR ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک همراهی ندارد (جدول ۴).

جدول ۴: مقایسه فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم 5-HTTLPR در گروه کنترل و بیمار و نتایج آنالیز ژنوتیپی به وسیله ۵ تست آنالیز ژنوتیپی

	Control	Case	OR(95% CI)	p-value
Codominant				
L/L	۳۵ (۰/۳۵)	۲۱ (۰/۲۶/۹)	۱	۰/۲۱۹۳۲
L/S	۴۲ (۰/۴۲)	۴۳ (۰/۵۵/۱)	۱/۷۱ (۰/۸۶-۳/۴)	
S/S	۲۳ (۰/۲۳)	۱۴ (۰/۱۷/۹)	۱/۰۱ (۰/۴۳-۲/۳۹)	
Dominant				
L/L	۳۵ (۰/۳۵)	۲۱ (۰/۲۶/۹)	۱	۰/۲۴۷۶۹
L/S-S/S	۶۵ (۰/۶۵)	۵۷ (۰/۷۳/۱)	۱/۴۶ (۰/۷۶-۲/۷۹)	
Recessive				
L/L-L/S	۷۷ (۰/۷۷)	۶۴ (۰/۸۲/۱)	۱	۰/۴۰۷۶۹
S/S	۲۳ (۰/۲۳)	۱۴ (۰/۱۷/۹)	۱/۷۳ (۰/۳۵-۱/۵۴)	
Overdominant				
L/L-S/S	۵۸ (۰/۵۸)	۳۵ (۰/۴۴/۹)	۱	۰/۰۸۱۵۷
L/S	۴۲ (۰/۴۲)	۴۳ (۰/۵۵/۱)	۱/۷ (۰/۹۳-۳/۰۸)	
log-Additive				
0,1,2	-	۷۸ (۰/۴۳/۸)	۱/۰۶ (۰/۷-۱/۶۱)	۰/۷۷۹۳۷

طی آنالیزهای انجام شده و نتایجی که بدست آمد، در همه موارد $P > 0/05$ نشان دهنده این است که آلل‌های مختلف پلی مورفیسم 5-HTTLPR ژن SLC6A4 ارتباط معنی‌داری با اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد ترک آذری وجود ندارد.

بحث

مطالعات زیادی ثابت کرده‌اند که اختلال اوتیستیک یک بیماری مولتی فاکتوریال می‌باشد و مطالعات دوقلوها وراثت پذیری ۳۸-۹۰ درصدی اختلال اوتیستیک را نشان داده است ولی هنوز مکانیسم اکثر ژنهای کاندید در ایجاد اختلال اوتیستیک نامشخص می‌باشد. حدود ۹۰ درصد موارد اختلال اوتیستیک دارای اتیولوژی ایدیوپاتیک یا بدون علت می‌باشند و حدود ۵-۱۰ درصد مبتلایان، اختلال اوتیستیک ثانویه دارند. اوتیسم ثانویه در اثر عواملی مثل فاکتورهای محیطی، ناهنجاری‌های کروموزومی و بیماری‌های تک ژنی ایجاد می‌شوند. در طی مطالعات متعدد مناطقی از ژنوم انسان که تغییرات ژنی در آن مناطق ریسک ابتلا به اختلال اوتیستیک را بالا می‌برد شناسایی شده است و یکی از این مناطق با ریسک بالا برای ابتلا به اختلال اوتیستیک نواحی ژنی روی کروموزوم ۱۷ می‌باشد که ژن SLC6A4 نیز در روی این ناحیه قرار دارد (۱۰).

ژن‌هایی که در ابتلا به اختلال اوتیستیک موثر شناخته شده‌اند اکثراً با تأثیری که بر میزان سروتونین خون دارند ریسک ابتلا به اختلال اوتیستیک را افزایش می‌دهند، به صورتی که ژن SLC6A4 چون سطح سروتونین خون را تغییر می‌دهد، به عنوان یکی از ژن‌های کاندید برای اختلال اوتیستیک در نظر گرفته می‌شود. Liu و همکاران در سال ۲۰۱۵ با مطالعاتی که روی ژن SLC6A4 انجام دادند به این نتیجه رسیدند که پلی‌مورفیسم‌های مختلف ژن SLC6A4 می‌توانند تغییرات عمده در بیان ژن داشته باشند و از طریق افزایش یا کاهش جذب سروتونین با اختلال اوتیستیک ارتباط دارد. طی مطالعات انجام شده آلل S پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR این ژن فعالیت رونویسی کمتر و جذب سروتونین کمتری نسبت به نوع آلل L دارد و محققان معتقدند که با اثری که هر یک از این آلل‌ها در میزان سروتونین دارند باعث تغییر در ریسک ابتلا به اختلال اوتیستیک می‌شود (۱۱).

در مطالعه حاضر در افراد کنترل از ۱۰۰ نفر ۳۵ نفر به صورت LL بودند، ۴۲ نفر به صورت LS و ۲۳ نفر به صورت SS و از بین افراد بیمار از ۷۸ نفر ۲۱ نفر LL، ۴۳ نفر LS و ۱۴ نفر SS بودند که نشان دهنده‌ی بالا بودن ژنوتیپ LS در بین افراد کنترل و بیمار بود که طی تحقیقات گذشته نیز این مورد گزارش شده بود. این مطالعه نشان داد هیچ ارتباط معنی‌داری بین آلل‌های مختلف پلی-مورفیسم‌های 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد آذری ترک وجود ندارد. در مطالعاتی که در گذشته برای یافتن ارتباط دو آلل L و S این پلی‌مورفیسم با اختلال اوتیستیک انجام شده به نتایج متفاوتی رسیده‌اند.

Fan و همکاران درباره‌ی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های 5-HTTLPR ژن SCL6A4 و استعداد ابتلا به اسکیزوفرنیا را مورد

بررسی قرار دادند و ارتباط معنی‌دار آلل‌های مختلف این پلی-مورفیسم با بیماری اسکیزوفرنیا را گزارش کردند (۱۲).

Coutinho و همکاران در مورد عوامل تغییر دهنده‌ی بیان ژن انتقال دهنده‌ی سروتونین (SLC6A4) از جمله پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR و نقش آن در بروز اختلال اوتیستیک را مورد مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که آلل‌های مختلف این پلی-مورفیسم ارتباط معنی‌داری با اختلال اوتیستیک دارد (۱۳). همچنین Adamsen و همکاران در مطالعه دیگری رابطه اختلال اوتیستیک و اثرات واریانت 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 مورد مطالعه قرار دادند و به نتیجه مشابه رسیدند (۱۴).

Hung و همکاران طی یک مطالعه مرور سیستماتیک نتیجه گرفتند که در بین نمونه‌های مورد بررسی بیشترین تعداد آلل دیده شده در افراد اوتیسمی آلل هتروزیگوت LS بود که با مطالعه ما همخوانی داشت. آلل S پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR بازدهی رونویسی m-RNA مربوط به پیش برنده‌ی ژن SLC6A4 را کاهش می‌دهد که منجر به کاهش بیان 5-HTT و باعث کاهش جذب سروتونین می‌شود که با این اعمال آلل 5-HTTLPR را به عنوان عاملی بی‌تأثیر روی اختلال اوتیستیک گزارش کردند (۷).

Goldman و همکاران رابطه آلل‌های مختلف پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR با افسردگی را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که در کسانی که ژنوتیپ SS یا LS را دارند ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR و افسردگی وجود دارد (۹).

Giabriele و همکاران به بررسی سیستماتیک و تجزیه و تحلیل سطح بالای سروتونین خون و تأثیر آن در اختلالات طیف اوتیسمی پرداختند؛ در این مطالعه سیستماتیک به این نتیجه رسیدند که به طور قابل توجهی آلل L واریانت 5-HTTLPR با اختلال اوتیستیک مرتبط است به این دلیل که میزان سروتونین افراد دارای این نسبت به افراد کنترل بالاتر بود. بنابراین نتیجه‌گیری کردند ارتباط معنی‌داری بین آلل L واریانت 5-HTTLPR با اختلال اوتیستیک وجود دارد (۱۵). همچنین طی مطالعاتی که روی متابولیسم، انتقال و نقش سروتونین در بدن و ارتباط آن با بعضی از بیماری‌های روانپزشکی انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که بین تغییرات غلظت سروتونین و آلل‌های مختلف ژن انتقال دهنده سروتونین و گیرنده‌های آن، با برخی بیماری‌ها از جمله اختلال اوتیستیک ارتباط وجود دارد به طوری که با مصرف داروهایی که بر این عوامل تأثیرگذارند می‌توان به درمان آن بیماری‌ها پرداخت (۱۰).

همانطور که ملاحظه می‌شود، نتایج ضد و نقیضی در رابطه با آلل‌های مختلف واریانت 5-HTTLPR با اختلال اوتیستیک تا به حال گزارش شده است و دلایل آن ممکن است مربوط به حجم

منابع مالی

مرکز تحقیقات روانپزشکی و علوم رفتاری دانشگاه علوم پزشکی تبریز که تامین مالی این مطالعه بخشی از منابع مالی (به شماره ۵۷۴۴۱) این پژوهش را قبول کرده است. این مقاله بر اساس پایان نامه دوره کارشناسی ارشد آقای فرزاد طاهری تهیه شده است.

منافع متقابل

در این مقاله هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

مشارکت مولفان

س م د، ف ط و همکاران، طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشت. همچنین محمود شکاری خانیانی مقاله را تألیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تأیید کرده است.

نمونه مورد بررسی یا جمعیت مورد بررسی با نژادهای مختلف و با شرایط محیطی متفاوت باشد.

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم 5-HTTLPR ژن SLC6A4 و اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد آذری ترک وجود ندارد.

قدردانی

از صبر و حوصله بیماران اوتیسم و همکاری خانواده‌های آنها و همچنین از زحمات فراوان کارکنان مرکز ژنتیک پزشکی ابن سینای تبریز که در انجام این مطالعه ما را یاری نمودند صمیمانه تشکر می‌نمایم.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه در کمیته منطقه‌ای اخلاق در پژوهشهای علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به تصویب رسیده است (شماره تصویب ۵۷۴۴۱)

References

- Folstein S E, Rosen-Sheidley B. Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder. *Nat Rev Genet* 2001; **2**(12): 943-955. doi: 10.1038/35103559
- Shekari Khaniani M, Amini Yeganeh F, Amiri Sh, Mansouri Derakhshan. Autistic Phenotype of Permutation and Intermediate Alleles of FMR1 Gene. *Iran J Pediatr* 2017; **27**(4): 9445. doi: 10.5812/ijp.9445
- Sorte H S, Gjevik E, Sponheim E, Eiklid K L, Rødningen Olaug K. Copy number variation findings among 50 children and adolescents with autism spectrum disorder. *Psychiatr Genet* 2013; **23**(2): 61-69. doi: 10.1097/YPG.0b013e32835d718b
- Ayhan F, Konopka G. Genomics of autism spectrum disorder. *Approach to therapy. F1000Res* 2018; **7**: 627. doi:10.12688/f1000research.13865.1.
- Bayou N. Autism: an overview of genetic aetiology. *Tunis Med* 2008; **86**(6): 573-578.
- Chen N. Meta-analyses of RELN variants in neuropsychiatric disorders. *Behav Brain Res* 2017; **332**: 110-119. doi: 10.1016/j.bbr.2017.05.028.
- Huang C H, Santangelo S L. Autism and serotonin transporter gene polymorphisms: a systematic review and meta-analysis. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008; **147b**(6): 903-913. doi: 10.1002/ajmg.b.30720.
- Blair KS, Finger E, Marsh AA, Morton J, Mondillo K, Buzas B, et al. The role of 5-HTTLPR in choosing the lesser of two evils, the better of two goods: examining the impact of 5-HTTLPR genotype and tryptophan depletion in object choice. *Psychopharmacology (Berl)* 2008; **196**(1): 29-38. doi: 10.1007/s00213-007-0920-y.
- Goldman N, Goldman N, Gleit DA, Lin YH, Weinstein M. The serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR): allelic variation and links with depressive symptoms. *Depress Anxiety* 2010; **27**(3): 260-269. doi: 10.1002/da.20660.
- Bloch B, Reshef A, Cohen T, Tafla A, Gathas S, Israel S, et al. Preliminary effects of bupropion and the promoter region (HTTLPR) serotonin transporter (SLC6A4) polymorphism on smoking behavior in schizophrenia. *Psychiatry Res* 2010; **175**(1-2): 38-42. doi: 10.1016/j.psychres.2008.12.015.
- Liu Y, Garrett M E, Dennis M F, Green K T, Ashley-Koch A E, Hauser M A, et al. An examination of the association between 5-HTTLPR, combat exposure, and PTSD diagnosis among U.S. veterans. *PLoS One* 2015; **10**(3): e0119998. doi: 10.1371/journal.pone.0119998.
- Fan J B, Sklar P. Meta-analysis reveals association between serotonin transporter gene STin2 VNTR polymorphism and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2005; **10**(10): 928-938. doi: 10.1038/sj.mp.4001690.

14. Coutinho A M, Oliveira G, Morgadinho T, Fesel C, Macedo TR, Bento C, et al. Variants of the serotonin transporter gene (SLC6A4) significantly contribute to hyperserotonemia in autism. *Mol Psychiatry* 2004; **9**(3): 264-271. doi: 10.1038/sj.mp.4001409.
15. Adamsen D, Meili D, Blau N, Thöny B, Ramaekers V. Autism associated with low 5-hydroxyindolacetic acid in CSF and the heterozygous SLC6A4 gene Gly56Ala plus 5-HTTLPR L/L promoter variants. *Mol Genet Metab* 2011; **102**(3): 368-373. doi: 10.1016/j.ymgme.2010.11.162.
16. Gabriele S, Sacco R, Persico A M. Blood serotonin levels in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *Eur Neuropsychopharmacol* 2014; **24**(6): 919-929. doi: 10.1016/j.euroneuro.2014.02.004

Original Article

An Improvement to Emotion Detection in EEG Signals Using Deep Artificial Neural Networks

Seyed Mohammad Reza Mousavinasr¹ , Ali Pourmohammad^{*2} 

¹ Department of Information and Telecommunications, Malek-Ashtar University of Technology, Tehran, Iran.

² Department of Electrical Engineering, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran.

*Corresponding author; E-mail: pourmohammad@aut.ac.ir

Received: 15 October 2016 Accepted: 15 January 2017 First Published online: 13 December 2018

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):91-101

Abstract

Background: One of the research areas that in recent years several studies have been performed on it is emotion recognition in the EEG signals. In this study, a 4-layered approach has been provided to improve the emotion detection in EEG signals.

Methods: In this study, we used DEAP data set. We provided a 4-layered approach as follows: 1- Preprocessing 2- Feature Extraction 3-Dimensionality Reduction 4- Emotion detection. To select optimal choices in some stages of these layers, we've done some other experiments.

Results: The three different experiments have been done. First, finding the right window in the feature extraction. The results shows that Hamming window was the suitable one. Second, selecting the most appropriate number of filter banks in the feature extraction. The results of this experiment showed that 26 numbers was the most appropriate choice. The third experiment was to detect emotions through the proposed method. The results showed 81.58 percent accuracy for arousal, 79.87 percent accuracy for the valence, 80.35 percent accuracy for the dominance dimensions in 2-classes experiment. For 3-classes experiment the results was 68.54 percent accuracy for arousal 66.31 percent accuracy for the valence, 66.92 percent accuracy for the dominance dimensions.

Conclusion: The 7.38 percent accuracy improvement in 2-class experiment and 3.38 accuracy improvement in 3-class experiment. This improvement in valence dimension was 7.54 and 5.21, respectively. It seems that using the proposed method can improve emotion detection in EEG signals.

Keywords: Deep Neural Networks, Electroencephalography (EEG), Emotion Detection, ICA

How to cite this article: Mousavinasr S. M R, Pourmohammad A. [An Improvement to Emotion Detection in EEG Signals Using Deep Artificial Neural Networks]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):91-101. Persian.

مقاله پژوهشی

بهبود تشخیص احساسات افراد در سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرافی با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی عمیق

سید محمدرضا موسوی نصر^۱، علی پورمحمد^{۲*}

^۱گروه هوش مصنوعی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران.

^۲دانشکده مهندسی برق دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: ایمیل pourmohammad@aut.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۵/۷/۲۴ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۶ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ آذر و دی؛ ۴۰(۵):۹۱-۱۰۱

چکیده

زمینه: از زمینه‌های تحقیقاتی که در سال‌های اخیر پژوهش‌های مختلفی بر روی آن صورت گرفته، تشخیص احساسات در سیگنال‌های الکتروانسفالوگرافی است. در این پژوهش با ارائه روشی ۴ لایه اقدام به بهبود تشخیص احساسات افراد از طریق این سیگنال‌ها خواهیم نمود. روش کار: این پژوهش، از مجموعه دادگان DEAP استفاده کرده و روشی ۴ لایه ارائه داده که عبارتند از: ۱- پیش‌پردازش ۲- استخراج ویژگی ۳- کاهش بعد ۴- تشخیص و تخمین احساسات. برای یافتن انتخاب‌های بهینه در برخی مراحل از این لایه‌ها نیز آزمایش‌های متفاوتی صورت گرفته است. یافته‌ها: در این پژوهش، ۳ آزمایش متفاوت صورت گرفته است. اول، یافتن مناسب‌ترین پنجره در بخش استخراج ویژگی که نتیجه آن برتری پنجره Hamming نسبت به سایر پنجره‌ها بود. دوم، انتخاب مناسب‌ترین تعداد فیلتربانک که مناسب‌ترین نتیجه آن تعداد ۲۶ بود. سومین آزمایش نیز تشخیص احساسات بود که دقتی معادل ۸۱.۵۸ برای بعد برانگیختگی، ۷۹.۸۷ برای بعد ظرفیت و ۸۰.۳۵ برای بعد احاطه در آزمایش ۲ کلاسه و ۶۸.۵۴ برای بعد برانگیختگی، ۶۶.۳۱ برای بعد ظرفیت و ۶۶.۹۲ برای بعد احاطه در آزمایش ۳ کلاسه را به همراه داشت. نتیجه‌گیری: نتایج حاصله از این روش بهبود ۷.۳۸ درصدی در سطح ۲ کلاسه و ۳.۳۸ درصدی در سطح ۳ کلاسه در بعد برانگیختگی را نشان داد. این بهبود در بعد ظرفیت به ترتیب برابر ۷.۵۴ و ۵.۲۱ بوده است. نتایج به‌دست‌آمده حاکی از آن است که روش پیشنهادی می‌تواند منجر به بهبود دقت تشخیص احساسات گردد.

کلید واژه‌ها: آنالیز اجزاء مستقل، الکتروانسفالوگرافی، تشخیص احساسات، شبکه عصبی عمیق

نحوه استناد به این مقاله: موسوی نصر س. م. ر، پورمحمد ع. بهبود تشخیص احساسات افراد در سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرافی با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی عمیق. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵):۹۱-۱۰۱

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

در دنیای امروز که امواج و سیگنال‌های مختلفی انسان را احاطه کرده‌اند استفاده از این سیگنال‌ها و امواج در موارد مختلف یک امر اجتناب‌ناپذیر و در بسیاری از موارد در زمینه‌های مختلف راه گشای مسائل مختلف بوده‌اند. انسان نیز بر اثر فعالیت‌ها، تفکرات، تصورات و احساساتی که از خود بروز می‌دهد، سیگنال‌هایی را در مغز خود تولید می‌کند که با استفاده از این سیگنال‌ها می‌توان تحلیل‌های متفاوتی انجام داده و استفاده‌های مختلفی از آن داشت. سیگنال‌های مغزی انسان انواع متفاوتی دارند که پرکاربردترین آن‌ها سیگنال‌های الکتروانسفالوگرافی (Electroencephalography, EEG) است. این سیگنال یک سیگنال الکتریکی است که بر اثر فعالیت مغز تولید می‌شود. همچنین این سیگنال حاوی اطلاعات مختلفی است که می‌توان از آن در زمینه‌های متفاوتی بهره برد. از جمله این زمینه‌ها، تشخیص احساسات افراد در مقابل محرک‌های حسی مختلفی است که معمولاً از طریق مشاهده و گاهی از طریق گوش و از طریق شنوایی انسان به او القا می‌شوند. در طی این تحریک‌ها، احساسات مختلف افراد از آن‌ها بروز می‌یابند که این احساسات در سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرافی آن‌ها نیز نمایان می‌شوند. در طی سالیان گذشته تحقیقات و پیشرفت‌های مناسبی در این زمینه انجام شده است که متأسفانه می‌توان گفت دقت تشخیص این کارها در آزمایش‌های متفاوت، رضایت‌بخش نبوده است. در این پژوهش، عمده مقالات ارائه‌شده در این زمینه در طی سال‌های ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۵ میلادی مرور و بازبینی شده است. این مقالات در زمینه تشخیص احساسات افراد از طریق سیگنال‌های مغزی آن‌ها با استفاده از روش‌های مختلف است. بسیاری از این مقالات برای کار خود از مدل ۲ بعدی برانگیختگی-ظرفیت (Arousal-Valence) که توسط Russel و همکاران (۱) در سال ۱۹۸۰ و یا مدل ۳ بعدی برانگیختگی-ظرفیت-احاطه (Arousal-Valence-Dominance) که یک بعد بیشتر از مدل ۲ بعدی به نام احاطه دارد و مربوط به کنترل احساسات است، استفاده کرده‌اند. در این پژوهش با نگاهی به کارهای قبلی انجام شده در این زمینه، روشی جهت بهبود دقت تشخیص احساسات در سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرافی به‌وسیله روش‌ها و الگوریتم‌های موجود در زمینه یادگیری ماشین ارائه شده که بر پایه یادگیری عمیق به‌وسیله شبکه عصبی عمیق است. در این راه با توجه به پژوهش‌های پیشین انجام‌شده در دانشگاه صنعتی مالک اشتر، برای افزایش دقت تشخیص در کاربردهای متفاوت از طریق سیگنال‌های مغزی، نیاز به حذف نویز از این سیگنال‌ها وجود دارد. با توجه به پژوهش صورت گرفته در مقاله Imani و همکاران (۲) با عنوان "بررسی الگوریتم آنالیز اجزاء مستقل (ICA) جهت تشخیص و تفکیک دو گروه مفهومی کلمات خطر و اطلاع رسانی با استفاده از علائم

راهنمایی و رانندگی" که روش الگوریتم آنالیز اجزاء مستقل (Independent Component analysis, ICA) را به عنوان یکی از مناسب‌ترین روش‌ها جهت حذف نویز از سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرافی مطرح نمودند و همچنین استفاده از این روش در مقاله Bagheri و همکاران (۳) با عنوان "بررسی عملکرد تفکیک کننده‌ها و ویژگی‌های استخراجی جهت تفکیک الگوهای مغزی مربوط به فعالیت‌های ذهنی وابسته به چهار جهت اصلی" که نتایج مناسب و قابل قبولی نیز نسبت به پژوهش‌های صورت گرفته قبلی ارائه دادند، بر آن شدیم تا از این روش در پژوهش فعلی نیز بهره‌مند شویم. هدف اصلی این تحقیق تشخیص و بهبود شناسایی احساسات افراد از طریق سیگنال‌های مغزی برانگیخته شده آن‌ها با استفاده از یادگیری عمیق است که یکی از روش‌های تشخیص و دسته‌بندی به شمار می‌رود. در سال ۱۹۴۹ شیوهی الکتروگرافی ۱۰-۲۰ به‌عنوان استاندارد بین‌المللی شناخته شد که امکان پوشش تقریبی تمام نواحی سر توسط الکترودها را فراهم می‌کند. انتخاب الکترودها بر اساس نقاط ویژه استخوان جمجمه انجام می‌پذیرد. الکترودها در نواحی تلافی سطوح استخوان جمجمه قرار می‌گیرند و سایر الکترودهای میانی بر اساس ۱۰ و ۲۰ درصد کل فاصله چیده می‌شوند. نام هر منطقه بر اساس لوبی است که در آن قرار گرفته است که شامل Frontal (F)، Parietal (P)، Central (C)، Temporal (T) و Occipital (O) می‌باشند. (۲). تشخیص احساسات می‌تواند در زمینه‌های مختلفی و از راه‌های مختلفی صورت گیرد. یکی از روش‌ها، استفاده از سیگنال‌های مغزی افراد برای تشخیص احساسات پس از ضبط و ثبت سیگنال‌های مغزی افراد است. با توجه به اینکه تمامی فعالیت‌ها و اتفاقاتی که در بدن می‌افتد در مغز پردازش می‌شوند می‌توان از سیگنال‌های الکتریکی مغز که بر اثر فعالیت سلول‌های عصبی مغز بر اثر اتفاقاتی به وجود می‌آیند، استفاده کرده و اقدام به تشخیص احساسات نمود. در تشخیص احساسات با وجود کارهای متفاوت و بسیاری که انجام شده است هنوز هم چالش‌های اساسی وجود دارد. از جمله چالش‌های موجود، نحوه حذف نویزهای ناخواسته در سیگنال‌های ضبط شده است. برای حذف نویزهای ناخواسته روش‌های غیرترکیبی متفاوتی در کارهای مختلف استفاده شده است اما ثابت شده است که روش‌های ترکیبی همچون ترکیب دو روش تبدیل موجک (Wavelet Decomposition) و تحلیل اجزاء مستقل (Independent Component Analysis) که در سال ۲۰۰۶ توسط کاستلانوس و همکاران (۲) ارائه گشت، نسبت به روش غیر ترکیبی موجک و یا تحلیل اجزاء مستقل به صورت جداگانه برتری عملکرد داشته است. همچنین در کار سورنو که در سال ۲۰۱۳ ارائه گشت (۲) ثابت شد که ترکیب دو روش تجزیه حالت عملی

(Empirical Mode Decomposition) و تحلیل همبستگی کانونی (Canonical Correlation Analysis) برای حذف نویزها عملکرد بهتری نسبت به روش تحلیل همبستگی کانونی به صورت جداگانه و ترکیب دو روش تجزیه حالت عملی و تحلیل اجزاء مستقل عملکرد بهتری در حذف نویز نسبت به روش تحلیل اجزاء مستقل دارد. چالش اصلی که در این سیستم‌ها وجود دارد، بهبود عملکرد یعنی دقت تشخیص احساسات است. این امر وابسته به مقوله‌های متفاوتی است و نمی‌توان تنها یک عامل را در بهبود عملکرد تشخیص احساسات در سیگنال‌های مغزی مؤثر دانست. از جمله عواملی که در این بهبود مؤثرند، انتخاب ویژگی یا ویژگی‌های بهینه از سیگنال‌های مغزی و همچنین انتخاب دسته‌بند مناسب برای انجام دسته‌بندی احساسات یافت شده از سیگنال‌های مغزی است. این دو عامل به نوعی به یکدیگر وابسته‌اند و انتخاب بهینه و مناسب ویژگی‌ها موجب بهبود عملکرد دسته‌بند می‌شود. Soleymani و همکاران (۵) در سال ۲۰۱۲ اقدام به تولید یک مجموعه داده چندوجهی کردند و در آن با استفاده از ویژگی چگالی توان طیفی (Power Spectral Density) و دسته‌بند ماشین بردار پشتیبان اقدام به تشخیص احساسات نمودند. حاصل کار آن‌ها دقت ۵۷.۷ درصدی در بعد ظرفیت و ۵۲.۴ درصدی در بعد برانگیختگی را به همراه داشت. در کاری دیگر که توسط Liu و همکاران (۶) انجام شد با استفاده از همین ویژگی یعنی چگالی توان طیفی و اضافه کردن ویژگی هسته فشر و با استفاده از دسته‌بند ماشین بردار پشتیبان با هسته Quasiconformal نا متوازن (IQK-SVM) اقدام به تشخیص احساسات نمودند که نتیجه‌ای با دقت ۸۲.۶۸ درصدی در بعد ظرفیت و ۸۴.۷۹ در بعد برانگیختگی به دست آوردند. عامل دیگری که در دقت نتایج تأثیرگذار است انتخاب تعداد سطوح در مدل برانگیختگی - ظرفیت احساسات است. در ادامه مهم‌ترین و پرکاربردترین دسته‌بند‌های مورد استفاده در پژوهش‌های مورد مطالعه و مقالات استفاده کننده از آن‌ها تشریح خواهند شد. Petrantonakis و همکاران (۷) با استفاده از روش ماشین بردار پشتیبان (Support Vector Machine) اقدام به جداسازی و دسته‌بندی احساسات کردند. آن‌ها با استفاده از ویژگی‌های مبتنی بر تقاطع مرتبه بالا و دسته‌بند ماشین بردار پشتیبان توانستند به دقتی ۸۳.۳ درصدی در آزمایش خود که بر روی ۱۶ فرد و برای تشخیص ۶ احساس انجام شده بود دست یابند. این دقت در حالی به دست آمد که ویژگی‌ها به صورت ترکیب شده به دسته‌بند داده شدند. همچنین Yuan و همکاران (۸) نیز با استفاده از ۴ نوع ویژگی PSD30، DAMS12 و RAMS12 و PSD24 و با استفاده از دسته‌بند ماشین بردار پشتیبان اقدام به تشخیص ۴ حالت احساسی از روی موزیک پرداختند که در نهایت به دقت ۸۲.۲۹ درصدی با بازه خطای ۳.۰۶ درصدی بر روی DAMS12 دست یافتند. این دادگان از ۱۶ قطعه موسیقی از

صدا‌های جشنواره فیلم اسکار تهیه گشتند. لازم به ذکر است که منظور از PSD30 همان Power Spectral Density است که از ۳۰ الکتروود جاسازی شده بر روی سطح سر، DAMS12، Differential Asymmetry Spectral Power of Hemispheric در آن کانال C4 از C3 کم شده است. RAMS12 (C3-C4)، Rational Asymmetry Spectral Power of Hemispheric در آن کانال C3 بر کانال C4 تقسیم شده و PSD24 نیز همان PSD30 است با این تفاوت که در آن کانال‌های Fz، FCz، Cz، CPz، Pz و Oz وجود ندارند. Koelstra و همکاران (۹) همچنین در مقاله‌ای دیگر با استفاده از ویژگی‌های استخراج شده به وسیله روش‌های بزرگی اطلاعات متقابل و تخمین مربع انسجام و با به کارگیری دسته‌بند ماشین بردار پشتیبان اقدام به تشخیص احساس در ۲ بعد ظرفیت و برانگیختگی کردند. آن‌ها با استفاده از این دسته‌بند به میانگین دقت ۷۵ درصدی در بعد برانگیختگی و در بعد ظرفیت به دقت میانگین ۸۱ درصدی رسیدند. دادگان این آزمایش از ۲۶ نفر و به وسیله دادگان مرجع IAPS تهیه شدند. همچنین Hosseini و همکاران (۱۰) در سال ۲۰۱۱ اقدام به تشخیص احساسات از طریق سیگنال‌های مغزی ۱۵ شرکت‌کننده به وسیله ویژگی‌های بُعد کیفیت، آنتروپی تقریبی و آنتروپی موزیک با دسته‌بند ماشین بردار پشتیبان و هسته تابع شعاعی گاوسی کردند که در نهایت دقتی معادل ۷۳.۲۵ به دست آوردند. برای این کار از دادگان مرجع IAPS استفاده شد. Nie و همکاران (۱۱) در سال ۲۰۱۱ اقدام به شناسایی احساسات مبتنی بر سیگنال‌های مغزی در طی مشاهده فیلم نمودند. آن‌ها با استفاده از انرژی Log Band تبدیل فوریه برای هر نمونه و دسته‌بند ماشین بردار پشتیبان با هسته خطی، شناسایی احساسات را انجام دادند که در نهایت نتیجه‌ای معادل ۸۷.۵۳ با استفاده از تمامی ویژگی‌ها و با کاهش بعد رسیدند. برای این کار، این گروه از تکه فیلم‌های ۴ دقیقه‌ای تهیه شده از جشنواره فیلم اسکار استفاده کردند. Liu و همکاران (۱۴) در سال ۲۰۱۳ به بررسی پایگاه داده‌های مختلف تشخیص احساسات به منظور ارائه یک مجموعه داده از طریق ۲ مجموعه داده استاندارد جهت تحریک احساسات با استفاده از صوت و تصویر پرداختند. آن‌ها در این آزمایش با استفاده از ویژگی‌های فراکتال بُعدی، تقاطع مرتبه بالا و ۶ ویژگی آماری و از طریق دسته‌بند مبتنی بر ماشین بردار پشتیبان اقدام به تشخیص احساسات از پایگاه داده‌های IAPS، IADS و DEAP پرداختند. آن‌ها در این آزمایش بهترین دقت را برای تشخیص ۸ احساس با ۴ الکتروود ۵۳.۷ و در تشخیص ۲ احساس از طریق ۴ الکتروود ۸۷.۰۲ بر روی پایگاه داده DEAP اعلام کردند. در پژوهشی دیگر Zheng و همکاران (۱۵) اقدام به تشخیص احساسات با استفاده از شبکه باور عمیق کردند. آن‌ها در این پژوهش دسته‌بند‌های مختلفی را با استفاده از ویژگی آنتروپی تفاضلی که از هر ۵ باند آلفا، بتا، گاما، دلتا و تتا به دست آمده بود

به دسته بندی احساسات کردند که به دقت میانگین معادل ۵۵.۰۷ و دقت بیشینه ۶۷.۰ در بعد برانگیختگی و در بعد ظرفیت به دقتی میانگین ۵۸.۸ و بیشینه ۷۶ درصد رسیدند.

شبکه‌های عصبی مصنوعی (Artificial Neural Network - ANN)

تشخیص احساسات مبتنی بر سیگنال‌های مغزی EEG با استفاده از شبکه‌های عمیق با تغییر انتقال همگام مبتنی بر مؤلفه‌های اصلی. این عنوان مطالعه‌ای است از سوویچا Jirayucharoensak و همکاران (۲۱) در سال ۲۰۱۴ که در مجله جهان علم در انتشارات هینداوی منتشر گردید. این مطالعه از یادگیری با شبکه‌های عمیق جهت کش ارتباط ویژگی‌های ناشناخته بین سیگنال‌های ورودی که برای وظایف یادگیری حیاتی هستند را پیشنهاد می‌دهد. یادگیری شبکه عمیق به وسیله یک اتوانکدر پشته‌ای با استفاده از رویکرد یادگیری ویژگی به صورت سلسله مراتبی انجام شده است. ویژگی‌های شبکه تراکم توانی طیفی ۳۲ کاناله سیگنال‌های EEG از ۳۲ موضوع (هدف) است. جهت کاهش بیش آموز از PCA به منظور استخراج مهم‌ترین مؤلفه‌های ویژگی‌های ورودی اولیه استفاده شده است. علاوه بر آن، تغییر انتقال (انطباق) همگام مؤلفه‌های اصلی نیز برای حداقل کردن تأثیرات متغیر سیگنال‌های مختل ظرفیت و برانگیختگی به ترتیب با دقت ۴۹.۵۲٪ و ۴۶.۸۹٪ است. تغییر انطباق همگام مبتنی بر مؤلفه‌های اصلی دقت دسته‌بندی مربوطه را ۵.۵۵ درصد و ۶.۵۳ درصد افزایش می‌دهد. علاوه بر آن شبکه عصبی عمیق عملکرد بهتری را در مقایسه با دسته‌بندی‌های SVM و Naïve Bays ارائه می‌کند.

آنالیز جداساز خطی (Linear Discriminant Analysis-LDA)

Park و همکاران (۲۲) اقدام به تشخیص احساسات از طریق سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرافی در طی مشاهده فیلم نمودند. آن‌ها به وسیله استفاده از فرکانس باندهای سیگنال الکتروانسفالوگرافی، عدم تقارن مغزی و وابستگی و همچنین با استفاده از روش آنالیز جداساز خطی تشخیص احساسات را انجام دادند. آن‌ها توانستند به دقت میانگینی معادل ۵۷.۹ با استفاده از ویژگی فرکانس باندها، به دقت میانگین ۳۸.۸ با استفاده از ویژگی عدم تقارن مغزی و به دقت میانگین ۵۵.۳ با استفاده از ویژگی وابستگی دست یابند. برای این کار از ۱۱۰ شرکت‌کننده و تکه فیلم‌های خود ساخته و یا تهیه شده از فیلم‌ها استفاده کردند جهت ثبت سیگنال نمودند. در پژوهشی دیگر Hatamikia و همکاران (۴) در سال ۲۰۱۴ اقدام به بررسی عملکرد ویژگی‌های AR در دسته‌بندی حالات احساسی در ۲ و ۳ سطح نمودند. آن‌ها با استفاده از ویژگی رگرسیون خودکار و استفاده از الگوریتم (Sequential Forward Selection, SFS) و Davies-Bouldin و index جهت کاهش پیچیدگی محاسبات و افزونگی ویژگی و همچنین با استفاده از تحلیل جداساز خطی جهت دسته‌بندی حالات، اقدام به شناسایی احساسات از سیگنال‌های مغزی نمودند.

مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی دسته‌بند ماشین بردار پشتیبان توانست دقتی برابر ۸۴.۰۸ به دست آورد. دادگان این آزمایش از طریق نمایش قطعه‌هایی از فیلم‌های معروف به ۳ زن و ۳ مرد و از ۶۲ کانال به دست آمده بود. Lan و همکاران (۱۶) در سال ۲۰۱۵ یک الگوریتم وابسته به سوژه برخط با ویژگی‌های مناسب جهت بهبود دقت دسته‌بندی در تشخیص احساسات ارائه کردند. آن‌ها در این کار با استفاده از ویژگی‌های فراکتال بُعدی (Fractal Dimension)، توان، تقاطع مرتبه بالا و ضریب همبستگی درون کلاسی و ۶ ویژگی آماری و با استفاده از ماشین بردار پشتیبان با هسته چندجمله‌ای اقدام به تشخیص احساسات کردند که در نهایت برای تشخیص ۴ احساس به دقتی معادل ۴۹.۶۳ و برای ۲ احساس به دقت ۷۱.۷۵ و تنها برای تشخیص ۴ مثبت و منفی بودن احساسات به دقت ۷۳.۱۰ رسیدند. برای انجام این آزمایش، آن‌ها از مجموعه دادگان IADS استفاده کردند. همچنین در پژوهش Mehmood و همکاران (۱۷) که اقدام به شناسایی احساسات از طریق سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرام با استفاده از ماشین بردار پشتیبان و پارامترهای Hjorth یعنی فعالیت، تحرک و پیچیدگی برای هر ۵ باند از ۵ لب مغز کردند که در نهایت به دقتی معادل ۷۰ درصد تشخیص در ۲ احساس و به دقتی معادل ۳۰ درصد برای ۵ احساس رسیدند. آن‌ها برای به دست آوردن داده‌های موردنیاز خود از مجموعه دادگان IAPS استفاده کردند.

روش K نزدیک‌ترین همسایه (K-Nearest Neighbor)

Petrantonakis و همکاران (۱۸) در سال ۲۰۱۰ اقدام به تشخیص ۶ حالت احساسی با استفاده از سیگنال‌های مغز و تصاویر محرک نمودند. آن‌ها با استفاده از ویژگی‌های تقاطع مرتبه بالا و K نزدیک‌ترین همسایه اقدام به این کار نمودند که در نهایت به میانگین دقت ۷۳.۹۴ دست یافتند. Khosrowabadi و همکاران (۱۹) در سال ۲۰۱۰ نیز اقدام به تشخیص احساسات با استفاده از سیگنال‌های الکتروانسفالوگرافی از طریق قابلیت اتصال تابعی از ناحیه‌ای از مغز نمودند. آن‌ها با استفاده از ویژگی‌های استخراج شده از روش‌های بزرگی اطلاعات متقابل (Magnitude Mutual Information) و تخمین مربع انسجام (Squared Coherence Estimate) و دسته‌بند K نزدیک‌ترین همسایه به تشخیص ۴ احساس پرداختند و به دقتی در حدود ۷۹ در بعد برانگیختگی و ۸۲ درصد در بعد ظرفیت در بهترین حالت دست یافتند. برای این کار از دادگان IAPS و تکه موزیک‌های خاص از برنارد بوچارد از ۲۶ شرکت‌کننده استفاده کردند. در پژوهشی دیگر باز هم Khosrowabadi و همکاران (۲۰) در سال ۲۰۱۰ اقدام به دسته‌بندی همبستگی بر روی احساسات با استفاده از ویژگی‌های طیفی سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرافی پرداختند. آن‌ها با استفاده از ویژگی‌های استخراج شده به وسیله مدل ترکیبی گوسی طیف‌های الکتروانسفالوگرافی و دسته K نزدیک‌ترین همسایه اقدام

در این پژوهش آن‌ها به دقتی معادل ۶۳.۲۲ در بعد ظرفیت و ۶۵.۵۴ در بعد برانگیختگی برای دسته‌بندی ۲ کلاسه و به دقتی معادل ۵۱.۲۰ در بعد ظرفیت و ۵۲.۳۶ در بعد برانگیختگی برای دسته‌بندی ۳ کلاسه دست یافتند. آن‌ها همچنین برای انجام این کار از مجموعه دادگان DEAP بهره بردند.

تحلیل جداساز درجه دوم (Quadratic Discriminant Analysis)

Petrantonakis و همکاران (۱۸) در سال ۲۰۱۰ با استفاده از ویژگی‌های مبتنی بر تقاطع مرتبه بالا و تحلیل جداساز درجه دوم اقدام به تشخیص احساسات از طریق سیگنال‌های مغزی نمودند که به دقتی معادل ۶۲.۰۳ دست یافتند. این داده‌ها را از ۱۶ نفر و از طریق ۴ کانال به دست آوردند. Huang و همکاران (۱۲) در سال ۲۰۱۲ با استفاده از دسته‌بند Naïve Bays و ویژگی‌های استخراج شده از مرحله استخراج ویژگی با IIR یعنی ویژگی‌های CSP، ASP و AF اقدام به ارائه یک تکنیک الگوی مکانی نامتقارن برای استخراج ویژگی‌ها برای الگوریتم‌های تشخیص احساسات مبتنی بر سیگنال‌های الکتروانسفالوگرافی نمودند. برای کاهش بعد نیز از جداساز خطی فیشر (Fisher Linear Discriminant) استفاده نمودند. آن‌ها در این پژوهش توانستند به دقتی معادل ۶۶.۲۴ برای بعد برانگیختگی و ۸۳.۱۰ برای بعد ظرفیت دست یابند. داده‌های این پژوهش نیز از دادگان Ila و Iib از مجموعه دادگان BCI Competition IV استفاده کردند. در پژوهشی دیگر Joong و همکاران (۲۳) در سال ۲۰۱۳ اقدام به تشخیص احساسات در سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرافی کردند. آن‌ها در این آزمایش از آنالیز تبدیل فوریه سریع برای استخراج ویژگی از سیگنال‌های الکتروانسفالوگرافی استفاده کرده و برای انتخاب ویژگی نیز بر مبنای ضرایب همبستگی پیرسون عمل کردند. در این راه، جهت دسته‌بندی نیز از دسته‌بند Bayes بهره بردند. این گروه در دسته‌بندی ۲ کلاسه در ابعاد ظرفیت و برانگیختگی به ترتیب به دقتی معادل ۷۰.۹ درصد و ۷۰.۱ درصد دست یافتند. همچنین برای دسته‌بندی ۳ کلاسه این دقت به ترتیب برابر ۵۵.۴ درصد و ۵۵.۲ درصد بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، با توجه به تحقیقات صورت گرفته و بهره‌گیری از کارهای مرتبط مناسب انجام شده در زمینه تشخیص احساسات و نیز بهره‌گیری از روش مناسب یادگیری عمیق در پژوهش‌های متفاوت در زمینه تشخیص صوت، روندی ۴ مرحله‌ای را برای انجام این پژوهش که سعی در بهبود تشخیص احساسات در سیگنال‌های مغزی دارد، ارائه دادیم. این چهار مرحله عبارتند از:

۱. پیش‌پردازش
۲. استخراج ویژگی

۳. کاهش بعد

۴. شناسایی و تخمین احساسات

برای افزایش دقت تشخیص احساسات نیاز است تا هرکدام از این مراحل و زیر مرحله‌های آن‌ها نیز به نحوی انجام شوند که حتی الامکان بالاترین دقت را به همراه داشته باشند. بدین جهت در برخی از این مراحل و یا زیر مراحل پیشنهادی نیز آزمایش‌هایی جهت یافتن مناسب‌ترین مقادیر و انتخاب نیز صورت می‌گیرد. مرحله اول یعنی مرحله پیش پردازش، شامل ۴ زیر مرحله است این مراحل عبارتند از:

۱. کاهش نویز
 ۲. انتخاب سیگنال‌های مناسب
 ۳. فیلتر کردن جهت استخراج ۵ باند اصلی سیگنال الکتروانسفالوگرافی
 ۴. انتخاب باندهای مناسب جهت تشخیص احساسات
- مرحله دوم یعنی استخراج ویژگی نیز شامل چند زیر مرحله جهت استخراج ویژگی موردنظر یعنی ویژگی LFCC (Linear Frequency Cepstral Coefficients) است. این مراحل نیز عبارتند از:

۱. قاب‌بندی
۲. پنجره گذاری
۳. تبدیل فوریه سریع
۴. اعمال فیلتر بانک
۵. لگاریتم‌گیری
۶. DCT

پس از این مرحله وارد مرحله سوم یعنی کاهش بعد به وسیله الگوریتم (Kernel Fisher Discriminant Analysis, KFDA) خواهیم شد و در نهایت نیز در مرحله چهارم یعنی تشخیص و تخمین احساسات، پس از انتخاب یک روش شناسایی مبتنی بر یادگیری عمیق، اقدام به تخمین و تشخیص احساسات از طریق سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرافی کرده و پس از آن با استفاده از روش میانگین مربعات خطا دقت تشخیص را به دست می‌آوریم. لازم به ذکر است که این پژوهش در ۲ سطح ۲ کلاسه و ۳ کلاسه از مدل مرجع Russel (۱) برای احساسات انجام شده است.

مجموعه دادگان DEAP

این مجموعه داده که توسط Koelstra و همکاران (۹) با همکاری ۴ دانشگاه EPFL، Genève، Twente و Queens Marry به وجود آمده، مخفف کلمات Dataset for Emotion Analysis using EEG, Physiological and Video Signals است. این دادگان شامل ویدئو کلیپ‌هایی جهت تحریک احساسات و سیگنال‌های مغزی ثبت‌شده از افراد مورد آزمون در این آزمایش جهت تشخیص احساسات است. این دادگان از ۳۲ شرکت‌کننده

می‌شود تا بدین ترتیب در هر بار کاهش بعد داده‌هایی وابسته به یک بعد به دست آیند. در مرحله تخمین نیز از ۳ شبکه عصبی عمیق استفاده شد تا هرکدام از آن‌ها یک بعد را تخمین زده و تا حد امکان نتایج مناسبی را به همراه آورد. برای انتخاب داده‌ها جهت تخمین نیز از روش Cross-Validation استفاده شد. بدین ترتیب که ۲۵ درصد از داده‌ها برای آزمون، ۲۵ درصد دیگر برای اعتبارسنجی و ۵۰ درصد باقیمانده برای آموزش تخصیص داده شدند. روند انتخاب داده‌ها نیز به صورت تصادفی انجام گرفت. پس از اعمال این تنظیمات شبکه‌های عصبی آموزش داده شده و در ادامه مورد آزمون قرار می‌گرفتند. در نهایت نتایج آن‌ها یعنی نتایج به دست آمده بر اساس پنجره‌های مختلف با یکدیگر مقایسه شدند. این مقایسه هم به صورت فرد به فرد و هم به صورت میانگین کل افراد انجام شد. دقت نتایج نیز با استفاده از روش میانگین مربعات خطا یا همان (Mean Squared Error, MSE) محاسبه گردید. پس از آن با توجه به این مقایسه‌ها و نتایج به دست آمده مناسب‌ترین پنجره برای تخمین احساسات انتخاب شد. لازم به ذکر است که آزمایش این بخش به صورت ۲ کلاسه انجام شده است. نتایج میانگین این آزمایش بر روی ۴ پنجره مورد آزمون برابر است با:

جدول ۱: نتایج پنجره‌های آزمون شده در آزمون مناسب‌ترین پنجره

	میانگین دقت آزمون مناسب‌ترین پنجره			
	Hamming	Hanning	Black Man	Rectangle
برآینگی	۹۲.۷۹	۸۹.۷۳۲	۸۸.۲۹	۷۰.۷۱
ظرفیت	۹۱.۰۲	۹۰.۰۰۶	۸۵.۱۱	۷۰.۰۲
احاطه	۹۲.۶۶	۸۸.۴۵	۸۵.۲۵	۷۱.۴۵

در آزمایش تعداد فیلتر بانک‌ها با توجه به پژوهش‌های قبلی در زمینه استفاده از فیلتر بانک، چه استفاده از MFCC و چه از سایر روش‌ها همچون LFCC بازه‌ای ۱۰ عددی برای انجام این آزمایش از تعداد فیلتر بانک‌های پراستفاده جهت انتخاب مناسب‌ترین عدد برای انجام پژوهش تشخیص و تخمین احساسات انتخاب گردیده شد. این بازه از عدد ۲۰ تا ۲۹ است. روند انجام آزمایش مناسب‌ترین تعداد فیلتر بانک برای استخراج ویژگی به منظور شناسایی احساسات در سیگنال‌های مغزی نیز همانند روند انجام آزمایش مناسب‌ترین پنجره است با این تفاوت که در این آزمایش، پنجره را پنجره Hamming در نظر گرفته و به ترتیب برای تمامی آزمایش‌های افراد در مجموعه دادگان DEAP فیلتر بانک موجود در جدول ۲ را آزمایش می‌کنیم؛ یعنی هر بار پس از فریم بندی و اعمال پنجره Hamming بر روی داده و گرفتن FFT، تعداد متفاوتی از فیلتربانک را بر روی داده‌ها اعمال کرده و سپس از آن‌ها لگاریتم و DCT می‌گیریم. آزمایش تعداد فیلتر بانک بدین صورت انجام گرفت: آزمایش شماره ۱ تعداد ۲۰ فیلتربانک، آزمایش شماره ۲ تعداد ۲۱ فیلتر بانک، آزمایش شماره ۳ تعداد ۲۲ فیلتر بانک و

در طی تماشای ۴۰ دقیقه‌ای تهیه گشته شده است. همچنین برای ۲۲ نفر از ۳۲ شرکت‌کننده ویدئوی صورت آن‌ها نیز ضبط شده است. این مجموعه داده به صورت عمومی از طریق تارنمای اختصاصی این مجموعه داده در دانشگاه Queens Marry در دسترس است.

آزمایش مناسب‌ترین پنجره جهت استخراج ویژگی LFCC

در بخش استخراج ویژگی از مجموعه دادگان DEAP، یعنی استخراج ویژگی LFCC در الگوریتم ارائه شده در این پژوهش، مرحله‌ای به نام پنجره‌گذاری وجود دارد. در این قسمت برای یافتن مناسب‌ترین پنجره ۴ پنجره معروف و پر استفاده در این زمینه مورد آزمایش قرار گرفتند. این ۴ پنجره عبارتند از:

۱. Hamming
۲. Hanning
۳. Black-Man
۴. Rectangle

روند انجام آزمایش مناسب‌ترین پنجره نیز بدین صورت است که برای هر پنجره، برای تمامی افراد و آزمایش‌های انجام شده در مجموعه دادگان DEAP، استخراج ویژگی LFCC مبتنی بر آن پنجره انجام می‌شد و در ادامه تخمین مقادیر ۳ بعد احساسات یعنی برآینگی، ظرفیت و احاطه صورت می‌گرفت؛ یعنی دادگان ورودی ابتدا در مرحله پیش‌پردازش قرار می‌گرفتند تا نویز آن‌ها گرفته شود. سپس ۳۲ کانال EEG انتخاب شده و بر روی آن‌ها فیلتر میان‌گذر اعمال شده تا ۵ باند اصلی EEG استخراج شوند. پس از آن ۲ باند مناسب برای تشخیص احساسات با توجه به منبع (۸) انتخاب شدند. پس از این مرحله به قسمت استخراج ویژگی وارد می‌شویم. در این مرحله دادگان به فریم‌های یک ثانیه‌ای تقسیم شده و بر روی هر فریم، هر بار یک پنجره از ۴ پنجره ذکر شده را اعمال می‌کردیم. اندازه پنجره‌ها نیز با توجه به پژوهش Imani و همکاران در (۲) برابر ۵۱۲ در نظر گرفته شد. پس از آن، از نتیجه به دست آمده FFT گرفته می‌شد و بر روی آن فیلتر بانک ۲۱ تایی با روی هم افتادگی ۵۰ درصدی اعمال می‌گردید. در این آزمایش تعداد فیلتر بانک ثابت و معادل ۲۱ در نظر گرفته شده تا محاسبات ساده‌تر و آزمایش‌های مختلف در فضایی یکسان انجام شوند. در اینجا با توجه به بازه ۸ تا ۳۰ هرتز که مربوط به ۲ باند آلفا و بتا است، با اعمال فیلترهای مثالی با اندازه ۲ و روی هم افتادگی ۵۰ درصدی، دقیقاً ۲۱ فیلتر در این بازه جا می‌شوند. پس از استخراج داده‌های این مرحله، در نهایت از آن‌ها لگاریتم و سپس DCT گرفته می‌شود. پس از این مرحله، با توجه به مقاله (۶) با استفاده از روش KFDD با هسته گوسی کاهش بعد صورت گرفته و به مرحله تخمین یا تشخیص احساسات برای ۳ بعد برآینگی، ظرفیت و احاطه وارد می‌شوند. لازم به ذکر است برای به دست آوردن ویژگی‌های بهتر با وابستگی کمتر به ۲ بعد دیگر احساسات، کاهش بعد ۳ بار انجام

اساس پنجره Kaiser با پارامترهای پنجره Hamming و تعداد ۲۶ فیلتر بانک به دست آمده، پس از کاهش بعد به وسیله الگوریتم KFDA با هسته گوسی، به شبکه عصبی عمیق با ساختار زیر وارد شده تا تخمین و تشخیص احساسات صورت گیرد: این شبکه از ۵ لایه که شامل یک لایه ورودی با ۳۲ نرون، ۳ لایه مخفی که به ترتیب ۷۰، ۷۰ و ۲۰۰ نرون و یک لایه خروجی با یک نرون تشکیل شده است. این شبکه از نوع fitnet بوده و تابع یادگیرنده آن نیز از نوع trainseg انتخاب شده است. برای به دست آوردن نتایج متناسب با هر بعد احساسات هر بار ویژگی‌های به دست آمده LFCC مبتنی بر آن بعد به وسیله این شبکه آموزش، اعتبارسنجی و در نهایت آزمون می‌شوند تا بتوان بدین ترتیب دقت بهتری را برای هر بعد به دست آورد. تقسیم داده‌های ورودی یا همان ویژگی‌های LFCC استخراج شده از داده‌ها در این آزمایش نیز به وسیله روش Cross-Validation صورت می‌گیرد. با استفاده از این روش ۵۰ درصد ویژگی‌های LFCC استخراجی به عنوان داده آموزش، ۲۵ درصد از آن به عنوان داده اعتبارسنجی و ۲۵ درصد از آن به عنوان داده آزمون مورد استفاده قرار گرفتند. در نهایت پس از دریافت خروجی‌های شبکه عصبی عمیق ذکر شده، با استفاده از روش میانگین مربعات خطا دقت این تشخیص اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها

نتایج حاصله از این آزمایش به شرح زیر است:
نتایج آزمون تشخیص احساسات به وسیله شبکه عصبی عمیق با توجه توضیحات داده شده در بخش‌های قبل، نتایج اجرای آزمایش تشخیص احساسات سطح ۲ کلاسه در مدل Russel به روش ارائه شده به وسیله تخمین گر شبکه عصبی عمیق به شرح ذیل است:

• برانگیختگی: ۸۱.۵۸۳۹

• ظرفیت: ۷۹.۸۷۵

• احاطه: ۸۰.۳۵۹۵

همچنین نتایج اجرای آزمایش تشخیص احساسات سطح ۳ کلاسه به روش ارائه شده به وسیله تخمین گر شبکه عصبی عمیق به شرح ذیل است:

• برانگیختگی: ۶۸.۵۴

• ظرفیت: ۶۶.۳۱

• احاطه: ۶۶.۹۲

در نهایت نیز دقت تشخیص به دست آمده از آزمایش‌های انجام شده با روش ارائه شده در مقایسه با مهم‌ترین پژوهش‌هایی که از همین مجموعه دادگان استفاده کرده‌اند آورده شده است.

به همین ترتیب تا آزمایش آخر یعنی آزمایش شماره ۱۰ تعداد ۲۹ فیلتربانک مورد آزمون قرار گرفتند. در ادامه نیز همانند آزمایش مناسب‌ترین پنجره، کاهش بعد را به وسیله الگوریتم KFDA با هسته گوسی و برای هر ۳ بعد یعنی ۳ بار انجام داده و از سه شبکه عصبی عمیق جهت تخمین و تشخیص احساسات بهره می‌بریم. ساختار شبکه‌های عصبی مورد استفاده در این آزمایش نیز همانند آزمایش مناسب‌ترین پنجره به صورت تصویر ۵ بوده است. در نهایت نیز دقت نتایج حاصله به وسیله روش میانگین مربعات خطا محاسبه شده و نتایج هر فیلتر بانک با سایر نتایج مقایسه می‌گردند. لازم به ذکر است که آزمایش این بخش نیز به صورت ۲ کلاسه انجام شده است. با توجه به آزمایش‌های انجام شده برای افراد مختلف، جهت تصمیم‌گیری برای انتخاب مناسب‌ترین تعداد فیلتر بانک برای اجرای بهتر و دقیق‌تر تشخیص احساسات در سیگنال‌های مغزی، نیازمند میانگین دقت تشخیص به وسیله فیلتر بانک‌های مختلف هستیم. نتایج میانگین دقت تشخیص بر اساس تعداد فیلتر بانک مختلف از آزمایش‌های انجام شده، شرح ذیل است:

جدول ۲: میانگین دقت تشخیص بر اساس تعداد فیلتر بانک مختلف

برانگیختگی	ظرفیت	احاطه	ابعاد احساسات
۹۱.۹۷۵	۹۰.۳۴۷	۹۱.۵۱	۲۰
۹۲.۲۱۲	۹۱.۷۶۷	۹۲.۵۹۶	۲۱
۹۱.۸۳	۹۰.۸۴۴	۹۲.۳۳۴	۲۲
۹۱.۵۱۴	۹۱.۶۹۵	۹۱.۱۴۷	۲۳
۹۱.۵۲۲	۹۱.۹۶۷	۹۱.۴۶۹	۲۴
۹۲.۹۷۴	۹۱.۳۹۹	۹۲.۳۶۹	۲۵
۹۳.۹۲۵	۹۲.۶۴۴	۹۳.۱۴۲	۲۶
۹۲.۰۸۹	۹۱.۹۲۶	۹۲.۲۸۴	۲۷
۹۲.۵۴۶	۹۰.۸۰۲	۹۱.۰۲	۲۸
۹۲.۱۲۵	۹۱.۶۴۱	۹۰.۷۵۳	۲۹

آزمایش تخمین احساسات در سیگنال مغزی

در این مرحله پس تنظیم مراحل قبلی تخمین احساسات با توجه به آزمایش‌های انجام شده، یعنی آزمون‌های مناسب‌ترین پنجره و مناسب‌ترین تعداد فیلتر بانک که نتایج آن‌ها به ترتیب Kaiser با پارامترهای پنجره Hamming و تعداد ۲۶ فیلتر بانک بود، شبکه عصبی عمیق، برای تشخیص احساسات مورد آزمون قرار گرفت. این آزمون در دو سطح، ۲ کلاسه و ۳ کلاسه که به ترتیب ۲ سطح از مدل مرجع Russel و ۳ سطح از مدل مرجع Russel را پوشش می‌دادند، انجام شد. روند و نتایج آزمون تشخیص یا تخمین احساسات به وسیله این شبکه در ۲ سطح ذکر شده، به شرح ذیل است. در آزمایش انجام شده با شبکه عصبی عمیق ویژگی‌های LFCC استخراجی از الگوریتم پیشنهادی که بر

جدول ۳: مقایسه نتایج به‌دست‌آمده در سطح ۲ کلاسه و ۳ کلاسه با پژوهش‌های پیشین

ابعاد	سطح	Jirayucharoensak (۲۱)	Koelstra (۹)	Joong (۲۳)	Hatamikia (۴)	روش پیشنهادی (Me-DNN)
برانگیختگی	۲ کلاسه	-----	-----	۷۰.۱	۷۴.۲	۸۱.۵۸
	۳ کلاسه	۵۲.۰۳	۶۲	۵۵.۲	۶۵.۱۶	۶۸.۵۴
ظرفیت	۲ کلاسه	-----	-----	۷۰.۹	۷۲.۳۳	۷۹.۸۷
	۳ کلاسه	۵۳.۴۲	۵۷.۶	۵۵.۴	۶۱.۱	۶۶.۳۱
ابعاد دیگر	۲ کلاسه	-----	-----	-----	-----	۸۰.۳۵
	۳ کلاسه	-----	۵۵.۴	-----	-----	۶۶.۹۲
جزئیات		۹.۷۴±	علاقه	-----	-----	احاطه

بحث

هدف از انجام این پژوهش بهبود تشخیص احساسات در سیگنال‌های الکتروانسفالوگرافی به‌وسیله یادگیری عمیق بود. در این راستا همان‌گونه که پیش‌تر بیان شد روشی ۴ مرحله‌ای پیشنهاد گردید. در این ۴ مرحله، مراحل اولیه بودند که نیاز به بررسی بیشتر جهت انتخاب دقیق‌تر به‌منظور بهبود نهایی در تشخیص احساسات داشتند، ازجمله این مراحل، مرحله استخراج ویژگی بود. در این مرحله ویژگی LFCC استخراج می‌گردید. یکی از زیر مراحل این روش پنجره گذاری است. با توجه به آزمایش‌های انجام‌شده جهت استخراج مناسب‌ترین پنجره، از بین ۴ پنجره Hamming, Black-Man, Hanning و Rectangle، مناسب‌ترین پنجره را برای این قسمت می‌توان Hamming دانست. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این بررسی‌ها، پنجره Hamming دقت بهتری را در آزمایش مناسب‌ترین پنجره دو کلاسه در مدل مرجع احساسات Russel به دست آورد. میانگین دقت به‌دست‌آمده از این پنجره در بعد برانگیختگی ۹۲.۷۹، در بعد ظرفیت ۹۱.۰۲ و در بعد احاطه ۹۲.۶۶ بود. به همین ترتیب برای پنجره Hanning این مقادیر برابر بودند با ۸۹.۷۳، ۹۰.۰۰۶ و ۸۸.۴۵ همچنین برای پنجره Black-Man، مقادیر بیان‌شده برابر ۸۸.۲۹ برای بعد برانگیختگی، ۸۵.۱۱ برای بعد ظرفیت و برای بعد احاطه ۸۵.۲۵ بودند. درنهایت برای پنجره چهارم یعنی Rectangle در بعد برانگیختگی میانگین دقت ۷۰.۷۱، برای بعد ظرفیت ۷۰.۰۲ و برای بعد احاطه نیز مقدار دقت ۷۱.۴۵ به دست آمد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، بر مبنای نتایج حاصله از این آزمایش مناسب‌ترین پنجره برای انجام این آزمایش را می‌توان پنجره Hamming در نظر گرفت. پس از این پنجره می‌توان پنجره Hanning را به عنوان دومین مناسب‌ترین پنجره جهت انجام این آزمایش معرفی کرد. در بخش دیگری از مرحله استخراج ویژگی نیاز بود تا معین گردد چه تعداد فیلتر بانکی برای انجام آزمایش تشخیص احساسات در سیگنال‌های الکتروانسفالوگرافی نیاز است. بدین جهت، آزمایشی طراحی گردید که مقادیر مختلف فیلتر بانک را موردبررسی قرار داد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش که شرح و جزئیات در بخش‌های پیشین آورده شد، مناسب‌ترین تعداد فیلتر بانک در روش LFCC جهت استخراج ویژگی برابر ۲۶ بود. میانگین

نتایج حاصله از این تعداد فیلتر بانک در آزمایش انجام‌شده ۲ کلاسه، برای ۳ بعد برانگیختگی، ظرفیت و احاطه به ترتیب برابر است با ۹۳.۹۲، ۹۲.۶۴ و ۹۳.۱۴. پس از این مقدار، تعداد ۲۵ عدد فیلتر بانک را می‌توان دومین مناسب‌ترین انتخاب در نظر گرفت. میانگین دقت به‌دست‌آمده برای این تعداد در بعد برانگیختگی برابر ۹۲.۹۷، در بعد ظرفیت ۹۱.۳۹ و در بعد احاطه برابر ۹۲.۳۶ بوده است. همچنین سومین انتخاب را نیز می‌توان عدد ۲۷ در نظر گرفت که دقت‌های میانگین ۹۲.۰۸، ۹۱.۹۲ و ۹۲.۲۸ برای ابعاد برانگیختگی، ظرفیت و احاطه به همراه داشت. برای انجام این آزمایش با توجه به نتایج آزمایش قبل، یعنی مناسب‌ترین پنجره، پنجره مورد استفاده در این آزمایش در بخش LFCC، پنجره Hamming در نظر گرفته شده بود. درنهایت برای انجام آزمایش نهایی، یعنی تشخیص احساسات در سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرافی به‌وسیله یادگیری عمیق و بهبود آن از روش دسته‌بندی بوسیله شبکه عصبی عمیق با ساختاری ۵ لایه استفاده گردید. نتایج حاصله از آزمایش تشخیص احساسات به‌وسیله روش شبکه عصبی عمیق برای ۳ بعد برانگیختگی، ظرفیت و احاطه میانگین دقت ۸۱.۸۵، ۷۹.۸۷ و ۸۰.۳۵ در آزمایش ۲ کلاسه را به همراه داشت. این دقت‌ها در آزمایش ۳ کلاسه از مدل Russel برای ابعاد برانگیختگی، ظرفیت و احاطه به ترتیب برابر بودند با: ۶۸.۵۴، ۶۶.۳۱ و ۶۶.۹۲.

نتیجه‌گیری

همان‌طور که ملاحظه می‌شود، نتایج حاصله از این روش در مقایسه با کارهای پیشین انجام شده، هم در سطح ۲ کلاسه و هم در سطح ۳ کلاسه دقت بهتری را نشان می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهند که روش ارائه شده می‌تواند این مسئله یعنی تشخیص احساسات در سیگنال‌های الکتروانسفالوگرافی را بهتر حل کرده و دقت بالاتری را کسب نماید. در روش پیشنهادی با استفاده از شبکه عصبی عمیق دقت حاصله نسبت به بهترین دقت به‌دست‌آمده تاکنون یعنی پژوهش Hatamikia و همکاران (۴) در سطح ۲ کلاسه ۷.۳۸ درصد و در سطح ۳ کلاسه ۳.۳۸ درصد بهبود دقت در بعد برانگیختگی را به همراه داشت است. این بهبود

صمیمانه ایشان و هم چنین از تمامی افراد شرکت کننده در این طرح سپاس‌گزاری می‌نمایند.

ملاحظات اخلاقی

ملاحظات اخلاقی شامل نمی‌شود.

منابع مالی

منابع مالی ندارد.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

س م و ع پ طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشت. ع پ همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

References

1. Russel J A. "A circumplex model of affect.," *J Pers Soc Psychol* 1980; **39**(6): 1161-1178. doi: 10.1037/h0077714
2. Imani E, Pourmohammad A. "Studying the Independent Component Analysis (ICA) Algorithm for Detection and Separation of Two Conceptual Categories of the Words". *Arak Medical University Journal* 2015; **18**(100): 1-16.
3. Bagheri M, Pourmohammad A, Imani E. "A Study on the Performance of Classifiers and Extracted Features in Discriminating EEG Patterns of Mental Activities Related to Four Main," vol. 18, no. 105, pp. 11-23, 2016. doi: 10.1159/000416422
4. Hatamikia S, Maghooli K, Nasrabadi A M. "The Emotion Recognition System Based on Autoregressive Model and Sequential Forward Feature Selection of Electroencephalogram Signals". *J Med Signals Sensors* 2014; **4**(3). doi: 10.1109/icbme.2014.7043911
5. Soleymani M, Lichtenauer J, Pun T, Pantic M. "A multimodal database for affect recognition and implicit tagging". *IEEE Trans Affect Comput* 2012; **3**(1): 42-55. doi: 10.1109/t-affc.2011.25
6. Liu Y-H, Wu C-T, Cheng W-T, Hsiao Y-T, Chen P-M, and Teng J-T. "Emotion Recognition from Single-Trial EEG Based on Kernel Fisher's Emotion Pattern and Imbalanced Quasiconformal Kernel Support Vector Machine". *Sensors* 2014; **14**(8): 13361-13388. doi: 10.3390/s140813361
7. Petrantonakis P C, Hadjileontiadis L J. "A novel emotion elicitation index using frontal brain asymmetry

در بعد ظرفیت به ترتیب برابر ۷.۵۴ و ۵.۲۱ بوده است. به طور کلی این بهبود دقت حاصله را می‌توان نتیجه تغییر ۳ قسمت مختلف اعمال‌شده در این آزمایش نسبت به آزمایش‌های پیشین انجام‌شده در نظر داشت: ۱- استفاده از تمامی سیگنال‌ها بدون Down Sampling و حذف نویز که هرچند زمان محاسبات را افزایش می‌داد اما به همان ترتیب در دقت نیز تأثیرگذار بوده و آن را افزایش می‌دهد. ۲- تعیین مناسب‌ترین انتخاب‌ها در قسمت استخراج ویژگی که منجر به افزایش دقت نسبت به سایر انتخاب‌ها می‌شد. ۳- انتخاب دسته‌بندی که در بخش شناسایی صوت نتایج بسیار مناسبی را به همراه داشته است.

قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پژوهش صورت گرفته در دانشگاه صنعتی مالک اشتر تهران با عنوان "تشخیص احساسات افراد در سیگنال‌های مغزی الکتروانسفالوگرافی با استفاده از یادگیری عمیق" است. امکانات مورد نیاز پژوهش حاضر در دانشکده برق و الکترونیک دانشگاه صنعتی مالک اشتر توسط جناب آقای دکتر علی پورمحمد فراهم گردید. از این رو، نویسندگان از همکاری

- for enhanced EEG-based emotion recognition". *IEEE Trans. Inf. Technol. Biomed* 2011; **15**(5): 737-746. doi: 10.1109/titb.2011.2157933
8. Lin Y P, Wang C H, Jung T P, Wu T L, Jeng Sh K, Duann J R, Chen J H "EEG-based Emotion Recognition The Influence of Visual and Auditory Stimuli," Jul. doi: 10.1109/tbme.2010.2048568
 9. Koelstra S. "Deap: A database for emotion analysis; using physiological signals," *Affect Comput* 2012; **3**(1): 18-31. doi: 10.1109/t-affc.2011.15
 10. Hosseini S A, Naghibi-Sistani M B. "Emotion recognition method using entropy analysis of EEG signals". *I.J. Image Graph Signal Process* 2011; **5**: 30-36. doi: 10.5815/ijgisp.2011.05.05
 11. D. Nie, X. W. Wang, L. C. Shi, and B. L. Lu, "EEG-based emotion recognition during watching movies," *2011 5th Int. IEEE/EMBS Conf. Neural Eng. NER 2011*, pp. 667-670, 2011. http://dx.doi.org/10.1109/ner.2011.5910636
 12. D. Huang, C. Guan, K. K. Ang, H. Zhang, and Y. Pan, "Asymmetric Spatial Pattern for EEG-based emotion detection," *Proc. Int. Jt. Conf. Neural Networks*, pp. 10-15, 2012. http://dx.doi.org/10.1109/ijcnn.2012.6252390
 13. A. T. Sohaib, S. Qureshi, J. Hagelbäck, O. Hilborn, and P. Jerčić, "Evaluating classifiers for emotion recognition using EEG," *Lect. Notes Comput. Sci. (including Subser. Lect. Notes Artif. Intell. Lect. Notes Bioinformatics)*, vol. 8027, pp. 492-501, 2013. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-39454-6_53

14. Y. Liu and O. Sourina, "EEG databases for emotion recognition," *Proc. - 2013 Int. Conf. Cyberworlds, CW 2013*, pp. 302–309, 2013. <http://dx.doi.org/10.1109/cw.2013.52>
15. W.-L. Zheng, J.-Y. Zhu, Y. Peng, and B.-L. Lu, "EEG-based emotion classification using deep belief networks," in *2014 IEEE International Conference on Multimedia and Expo (ICME)*, 2014, pp. 1–6. <http://dx.doi.org/10.1109/icme.2014.6890166>
16. Z. Lan, O. Sourina, L. Wang, and Y. Liu, "Real-time EEG-based emotion monitoring using stable features," *Vis. Comput.*, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s00371-015-1183-y>
17. [17] R. M. Mehmood and H. J. Lee, "EEG based emotion recognition from human brain using Hjorth parameters and SVM," *Int. J. Bio-Science Bio-Technology*, vol. 7, no. 3, pp. 23–32, Jun. 2015. <http://dx.doi.org/10.14257/ijbsbt.2015.7.3.03>
18. Petrantonakis P. C, Hadjileontiadis L. J. "Emotion Recognition From EEG Using Higher Order Crossings," *IEEE Trans. Inf. Technol. Biomed.*, vol. 14, no. 2, pp. 186–197, Mar. 2010. <http://dx.doi.org/10.1109/titb.2009.2034649>
19. Khosrowabadi R, Heijnen M, Wahab A, Quek H. C. "The Dynamic Emotion Recognition System Based on Functional Connectivity of Brain Regions," *Emotion*, vol. 639798, pp. 377–381, 2010. <http://dx.doi.org/10.1109/ivs.2010.5548102>
20. Khosrowabadi R, Rahman A. W. B. A. "Classification of EEG correlates on emotion using features from Gaussian mixtures of EEG spectrogram," *Proceeding 3rd Int. Conf. Inf. Commun. Technol. Moslem World 2010*, pp. E102–E107, 2010. <http://dx.doi.org/10.1109/ict4m.2010.5971942>
21. S. Jirayucharoensak, S. Pan-Ngum, and P. Israsena, "EEG-based emotion recognition using deep learning network with principal component based covariate shift adaptation," *ScientificWorldJournal.*, vol. 2014, p. 627892, 2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/627892>
22. M.-S. Park, H.-S. Oh, H. Jeong, and J.-H. Sohn, "Eeg-based emotion recognition during emotionally evocative films," in *2013 International Winter Workshop on Brain-Computer Interface (BCI)*, 2013, pp. 56–57. <http://dx.doi.org/10.1109/iww-bci.2013.6506629>
23. H. Joong and S. Youb, "EEG-based emotion estimation using Bayesian weighted-log-posterior function and perceptron convergence algorithm," *Comput. Biol. Med.*, vol. 43, no. 12, pp. 2230–2237, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.compbiomed.2013.10.017>

Case Report

Retroperitoneal laparoscopic partial nephrectomy, two cases of kidney tumor for the first time in Iran

Alireza Farshi , Emadaddin Rezaei Talarposhty* 

Department of Urology and Endourology and Laparoscopy, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

*Corresponding author; E-mail: a.gh2535@yahoo.com

Received: 25 December 2016 Accepted: 9 March 2017 First Published online: 13 December 2018
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):102-105

Abstract

Partial Nephrectomy is the preferred surgical procedure for those tumors (<7 cm) which are restricted to kidneys. The most of the partial nephrectomy laparoscopic cases are performed transperitoneally. Here in we report two cases of renal masses smaller than 7 cm which underwent laparoscopic partial nephrectomy by retroperitoneal for the first time in Iran. The first patient was a 59 years old man with a 50*55 mm lesion. The second patient was a 65 years old woman with a 27 mm lesion. Both lesions were located in left renal inferior pole. The durations of warm ischemia were 28 and 24 minutes, respectively.

Keywords: Kidney Tumor, Laparoscopic, Partial Nephrectomy, Retroperitoneal

How to cite this article: Farshi A, Rezaei Talarposhty E. [Retroperitoneal laparoscopic partial nephrectomy, two cases of kidney tumor for the first time in Iran]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):102-105. Persian.

گزارش موردی

گزارش دو مورد پارشیل نفرکتومی لاپاراسکوپیک رتروپریتونئال تومور کلیه برای اولین بار در ایران

علیرضا فرشی^۱، عمادالدین رضایی تالارپشتی^{۲*} 

^۱متخصص ارولوژی و فلوشیپ اندیورولوژی و لاپاراسکوپیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲دستیار تخصصی ارولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
 *نویسنده مسئول؛ ایمیل: Emad.rezaei@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۵ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۹ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ آذر و دی؛ ۴۰(۵):۱۰۲-۱۰۵

چکیده

پارشیل نفرکتومی روش جراحی ترجیحی برای تومورهای (کوچکتر از ۷ سانتی متر) که محدود به کلیه هستند می باشد. بیشتر موارد لاپاراسکوپیک پارشیل نفرکتومی به روش ترانس پریتونئال انجام می شود. در اینجا ما دو مورد از توده های کلیه کوچکتر از ۷ سانتی متر که تحت پارشیل نفرکتومی لاپاراسکوپیک به روش رتروپریتونئال برای اولین بار در ایران انجام شده را گزارش می کنیم. بیمار اول آقای ۵۹ ساله و بیمار دوم خانم ۶۵ ساله ای که به ترتیب با توده ای به ابعاد ۵۵×۵۰ میلی متر و ۲۷ میلی متر در قطب تحتانی کلیه چپ بودند. مدت ایسکمی گرم در بیمار اول و دوم به ترتیب ۲۸ و ۲۴ دقیقه بود.

کلید واژه ها: تومور کلیه، پارشیل نفرکتومی، لاپاراسکوپیک، رتروپریتونئال

نحوه استناد به این مقاله: فرشی ع ر، رضایی تالارپشتی ع. گزارش دو مورد پارشیل نفرکتومی لاپاراسکوپیک رتروپریتونئال تومور کلیه برای اولین بار در ایران. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵):۱۰۲-۱۰۵

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

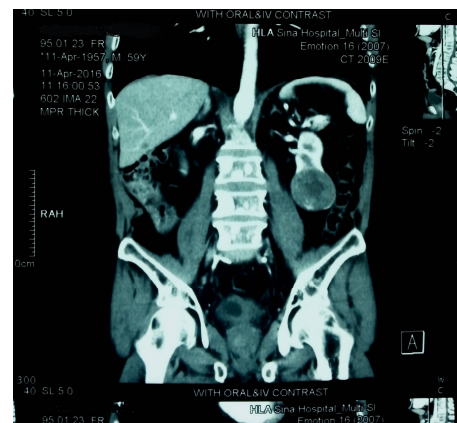
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کریئو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

تومور کلیه شانزدهمین علت مرگ ناشی از بدخیمی، نهمین بدخیمی شایع در مردان و چهاردهمین بدخیمی شایع در زنان می باشد (۱). بروز بیماری در کشورهای پیشرفته نسبت مرد به زن ۱۲/۴ به ۶/۲ به ازای هر ۱۰۰۰۰۰ نفر جمعیت می باشد (۲). شایعترین نوع بافتی رنال سل کارسینوما، Clear cell carcinoma می باشد که ۷۵٪-۸۵٪ از تمام رنال سل کارسینوماها را شامل می شود (۳). پارشیل نفرکتومی (یا جراحی حفظ نفرون) روش جراحی ترجیحی برای تومورهای T1 (<7 سانتی متر) که محدود به کلیه هستند می باشد. بویژه این روش جراحی در موارد تومورهای دوطرفه کلیه ها یا مواردی که کلیه ها از عملکرد ضعیفی برخوردار باشند بسیار مورد تایید است (۳). در اینجا ما دو مورد پارشیل نفرکتومی لاپاراسکوپیک را که به روش رتروپریتونال انجام شده اند گزارش می کنیم.

گزارش موارد

بیمار اول آقای ۵۹ ساله بود که با شکایت درد خفیف پهلوی چپ که از حدود ۲ ماه پیش بصورت درد مبهم و غیرکولیکی شروع شده بود و به جایی انتشار نداشت ارجاع شده بود. بیمار سابقه آدنوکارسینوم پروستات متاستاتیک از حدود ۶ ماه پیش داشت که تحت درمان با داروهای آنتی آندروژن بود. سابقه بیماری دیگری را ذکر نمی کرد و علائم حیاتی بیمار طبیعی بود. در سونوگرافی توده سفیدی به ابعاد ۴۵×۵۰ میلی متر در پل تحتانی کلیه چپ رویت شد. بیمار PSA=۱۰ داشت و سایر آزمایشات روتین نرمال بودند. در سی تی اسکن نیز توده ای به ابعاد ۵۰×۵۵ میلی متر در قطب تحتانی کلیه چپ با دانسیته هتروژن و حاوی کلسیفیکاسیون گزارش شده بود (شکل ۱). با توجه به سابقه کانسر پروستات از توده کلیه بیوپسی به عمل آمد که در پاتولوژی آدنوم توبولوپاپیلاری گزارش شد. بیمار فوق کاندید پارشیل نفرکتومی لاپاراسکوپیک شده و به روش رتروپریتونال تحت جراحی قرار گرفت.



شکل ۱: سی تی اسکن شکم و لگن با کنتراست خوراکی و وریدی

شرح تکنیک پارشیل نفرکتومی لاپاراسکوپیک به روش رتروپریتونال:

ابتدا در وضعیت فلانک چپ تحت بیهوشی عمومی چهار عدد پورت شامل دو عدد ۱۰ mm و دو عدد ۵ mm برای بیمار تعبیه شد (دو عدد پورت ۱۰ mm در خط مید اگزیلاری میانی و خلفی و دو عدد پورت ۵ mm در خط مید اگزیلاری قدامی). پس از پر کردن فضای خلف صفاقی با گاز Co2 با پیدا کردن حالب در روی عضله پسواس و با گاید آن به ناف کلیه حرکت کردیم. ابتدا پل تحتانی کلیه از بافت های اطراف آزاد گردید و بعد شریان را از بافت های اطراف و ورید کلیه جدا کرده و یک کلامپ بولداگ کوچک را که به انتهای نخ سیلک بسته شده بود از راه پورت ۱۰ mm به داخل منتقل و روی شریان قرار دادیم. با حاشیه حدود ۱ سانتی متر بوسیله متس جراحی توده از کلیه مرحله به مرحله جدا گردید و پس از آن در ناحیه عمل عروق و کاليس کلیه با نخ منوکريل ۳-۰ ترميم شد و بعد با استفاده از سوزن کبدي و کلیپس های همولاک پارانشیم کلیه در ناحیه عمل شده ترمیم گردید. در پایان کلامپ بولداگ از روی شریان برداشته شد و محل عمل از نظر خونریزی کنترل گردید که هیچگونه خونریزی دیده نشد. توده جدا شده در داخل کیسه مخصوصی قرار گرفت و از محل پورت ۱۰ mm که کمی بزرگ شده بود خارج گردید. اندازه توده در حدود ۵۵×۵۰ میلی متر و مدت ایسکمی گرم در حدود ۲۸ دقیقه بود. روز سوم پس از جراحی درن خارج و بیمار روز چهارم با وضعیت خوب مرخص گردید. گزارش پاتولوژی توده رنال سل کارسینوما از نوع پاپیلری بدون تهاجم عروقی که مارژین تومور و چربی پری نفریک بدون درگیری تومور بوده است.

بیمار دوم:

خانم ۶۵ ساله ای بود که حدود ۲ هفته پیش از مراجعه در یکی از بیمارستان های شهرستان کردستان به علت پنومونی تحت بستری و درمان قرار می گیرد به علت درد پهلوی چپ سی تی اسکن از بیمار انجام می شود که توده ای در پل تحتانی کلیه چپ به اندازه ۲۷ میلی متر گزارش می گردد. بیمار جهت اقدامات درمانی به بیمارستان امام رضا تبریز ارجاع می شود. بیمار سابقه فشار خون، هیپرلیپیدمی، دیابت و گواتر را ذکر می کرد که تحت درمان بود. میزان FBS=۱۵۰ و TSH=۱/۳۶ بود و سایر آزمایشات نرمال بود. بیمار سابقه مصرف آسپرین داشت که پس از یک هفته از قطع آسپرین تحت جراحی پارشیل نفرکتومی لاپاراسکوپیک به روش رتروپریتونال قرار گرفت. تکنیک جراحی بیمار دوم مشابه بیمار اول بود و تنها در بیمار دوم از سه پورت استفاده شده بود (دو عدد پورت ۱۰ mm و یک پورت ۵ mm) و مدت ایسکمی گرم ۲۴ دقیقه بود.

رتروپریتونئال انجام شد، متوسط مدت ایسکمی گرم و مدت زمان بستری در بیمارستان در روش ترنس پریتونئال طولانی تر بوده است که شاید به دلیل تومورهای با اندازه بزرگتری بود که در روش ترنس پریتونئال جراحی شدند (۶).

بر اساس اطلاعات ما پارشیل نفرکتومی لاپاراسکوپیک به روش رتروپریتونئال جهت برداشتن تومورهای زیر ۷ سانتی متر کلیه برای اولین بار در ایران در مرکز ما انجام شده است.

قدردانی

در پایان از تمامی پرسنل اتاق عمل بیمارستان امام رضا مخصوصاً کادر لاپاراسکوپیک تشکر ویژه داریم.

منافع متقابل

منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله نداریم.

مشارکت مؤلفان

ع. فرشی و ع. رضایی طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده اند.

پاتولوژی بیمار دوم رنال سل کارسینوما کروموفوب بود. اندازه آن ۵×۳×۲ بدون تهاجم عروقی که مارژین تومور و چربی پری نفریک بدون درگیری تومور بوده است. بیمار دوم نیز در روز چهارم بدون مشکل خاصی مرخص گردید. هر دو بیمار در ۶ ماه بعد از جراحی تحت بررسی و ارزیابی قرار گرفتند و هیچ گونه عود تومور یا کاهش عملکرد کلیه رویت نشد.

نتیجه گیری

روش پارشیل نفرکتومی لاپاراسکوپیک نسبت به روش باز پارشیل نفرکتومی همراه با موریدیتی کمتر می باشد و میزان بقا کلی در هر دو روش برابر می باشد (۳). همچنین طول مدت بستری بیمار در روش لاپاراسکوپیک کمتر می باشد. انتخاب اپروچ لاپاراسکوپیک وابسته به محل تومور کلیه می باشد، تومورهای خلفی و خلفی طرفی به روش رتروپریتونئال جراحی می شوند در حالی که تومورهای قدامی، قدامی طرفی یا طرفی بهتر است به روش ترنس پریتونئال جراحی شوند (۴). از مزایای روش رتروپریتونئال این است که احتمال آسیب روده و احشاء شکمی کمتر بوده و دسترسی به شریان کلیه در این روش آسانتر است و از معایب آن زمان یادگیری طولانی آن برای جراح به دلیل فضای کوچکتر رتروپریتونئال می باشد (۵). در مطالعه‌ای ۱۶۳ مورد پارشیل نفرکتومی لاپاراسکوپیک که به دو روش ترنس پریتونئال و

References

1. Znaor A, Lortet-Tieulent J, Laversanne M, Jemal A, Bray F. International Variations and Trends in Renal Cell Carcinoma Incidence and Mortality. *Eur Urol* 2015; **67**(3): 519-530. doi: 10.1016/j.eururo.2014.10.002
2. 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. *Int J Cancer* 2015; **136**(5): E359-E386. doi: 10.1002/ijc.29210
3. Ljungberg B, Cowan N C, Hanbury D C, Hora M, Kuczyk M A, Merseburger A S, et al. EAU guidelines on renal cell carcinoma: the 2010 update. *Eur Urol* 2010; **58**(3): 398-406. doi: 10.1016/j.eururo.2010.06.032
4. Gill I S, Matin S F, Desai M M, Kauok J H, Steitberg A, Mascha E D, et al. Novick comparative analysis of laparoscopic versus open partial nephrectomy for renal tumors in 200 patients. *The Journal of Urology* 2003; **170**(1): 64-68. doi: 10.1097/01.ju.0000072272.02322. ff
5. Bernardo N O, Gill N S. laparoscopic partial nephrectomy: current status. *Arch Esp Urol* 2002; **55**(7): 868-880. doi: 10.1007/3-540-27606-8_6
6. Christopher S Ng, Inderbir S Gill, Ramani A P, Steinberg A P, Spaliviero M. Trans peritoneal Versus Retroperitoneal Laparoscopic Partial Nephrectomy: Patient Selection and Perioperative Outcomes. *The Journal of Urology* 2005; **174**: 846-849. doi: 10.1097/01.ju.0000169259.49754.0

Case Report

Isolation of *Nocardia cyriacigeorgica* from brain abscess

Sepehr Navid¹ , Mehdi Khorshidi¹, Behnam Sisakhtpour¹, Masoud Keikha^{2*} 

¹ Department of Medical Microbiology, School of medicine, Isfahan university of medical sciences, Isfahan, Iran.

² Department of Medical Microbiology, School of medicine, Mashhad university of medical sciences, Mashhad, Iran

*Corresponding author; E-mail: masoudkeikha@outlook.com

Received: 20 April 2017 Accepted: 21 May 2017 First Published online: 13 December 2018

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):106-111

Abstract

Background: *Nocardia* are filamentous, aerobic, gram positive and partially acid fast bacteria that lives in environmental sources such as: water, soil and dust. This bacteria are cause of respiratory, neurological and cutaneous infection in both of immunocompromised and immunocompetent patients.

Methods: A 20-year-old man with no history of a certain disease symptoms such as headache, weakness, drowsiness and urinary incontinence was referred to Al-Zahra hospital. Bacteria were isolated from the patient's brain abscess based on microscopic examination, culture, biochemical characteristics and molecular were identified as *Nocardia cyriacigeorgica*. And according to result of antibiogram, this patient was treated by prescription of cotrimoxazol, amikacin and linezolid.

Conclusion: Nocardial brain abscess can be seen in both of immunocompromised and immunocompetent patients that if was not diagnosed and appropriate treatment was not prescribed could associate with high mortality.

Keywords: *Nocardia cyriacigeorgica*, brain abscess, Infection, 16SrRNA

How to cite this article: Navid S, Khorshidi M, Sisakhtpour B, Keikha M. [Isolation of *Nocardia cyriacigeorgica* from brain abscess]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):106-111. Persian.

گزارش موردی

جداسازی نوکاردیا سیریا سیجورجیکا از آبسه مغزی

سپهر نوید^۱، مهدی خورشیدی^۱، بهنام سی سخت پور^۱، مسعود کیخا^۲ 

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
^۲ گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
* نویسنده مسوول؛ ایمیل: masoudkeikha@outlook.com

دریافت: ۱۳۹۶/۱/۳۱ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۳۱ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. آذر و دی ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۱۱۱-۱۰۶

چکیده

نوکاردیا باکتری رشته ای هوازی، گرم مثبت با خاصیت اسید فاست نسبی است که در منابع محیطی از قبیل آب، خاک و ذرات گرد و غبار زندگی می کند. این باکتری ها قادرند که عفونت های تنفسی، عصبی و جلدی را در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی و افراد سالم پدید آورند. یک مرد ۲۰ ساله بدون سابقه بیماری خاص به علت سردرد، ضعف، خواب آلودگی و بی اختیاری ادرار به بیمارستان الزهرا اصفهان مراجعه نمود. باکتری جدا شده از آبسه مغزی این بیمار با توجه به بررسی های میکروسکوپی، کشت و خصوصیات بیوشیمیایی و بررسی مولکولی به عنوان نوکاردیا سیریا سیجورجیکا شناسایی شد. و با توجه به نتایج آنتی بیوگرام، این بیمار با تجویز کوتریموکسازول، آمیکاسین و لنزولاید درمان شد. آبسه های مغزی نوکاردیایی در بیماران نقص سیستم ایمنی و حتی افراد سالم نیز مشاهده می شوند که در صورت عدم تشخیص صحیح و درمان مؤثر مرگ و میر بالایی دارند.

کلید واژه ها: نوکاردیا سیریا سیجورجیکا، آبسه مغزی، عفونت، 16SrRNA

نحوه استناد به این مقاله: نوید س، خورشیدی م، سی سخت پور ب، کیخا م. جداسازی نوکاردیا سیریا سیجورجیکا از آبسه مغزی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵): ۱۱۱-۱۰۶

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپی رایت کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

نوکاریدیا، باکتری رشته‌ای گرم مثبت، فاقد اسپور، هوازی و کند رشد می باشد (۱). گونه‌های نوکاریدیا به صورت آزاد در منابع محیطی سراسر جهان زندگی می‌کنند و از طریق ذرات گرد و غبار و تلقیح تروماتیک وارد بدن انسان‌ها شده و عفونت‌های تنفسی، عصبی، جلدی، زیرجلدی، جلدی-لنفوی و مایستومایی را در بیماران نقص سیستم ایمنی و حتی افراد دارای سیستم ایمنی کارآمد به وجود می‌آورند (۲-۳). اعضای نوکاریدیا آستروئیدس کمپلکس براساس الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ۶ گروه طبقه‌بندی می‌شوند. براساس مطالعات مولکولی گونه‌های نوکاریدیایی که الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیک گروه ششم را نشان می‌دهند (مقاومت به پنی‌سیلین‌ها و حساسیت در برابر سفالسپورین‌های وسیع الطیف) به عنوان نوکاریدیا سیریاسیجورجیکا (*Nocardia Cyriacigeorgica*) شناخته می‌شوند (۱). نوکاریدیا سیریاسیجورجیکا برای اولین بار در جهان در سال ۲۰۰۱ از بیمار مبتلا به برونشیت مزمن جداسازی و گزارش شد. این باکتری یکی از مهم‌ترین گونه‌های پاتوژن نوکاریدیایی در سراسر جهان به شمار می‌آید بطوریکه امروزه گزارشات متعددی از عفونت‌های سستی - سمی، آبسه مغزی، کراتیت، آمپیم پلور و عفونت‌های تنفسی این گونه وجود دارد (۴).

مطالعه حاضر گزارش موردی در خصوص جداسازی نوکاریدیا سیریاسیجورجیکا از آبسه مغزی بیمار سالم از نظر سیستم ایمنی است.

گزارش مورد

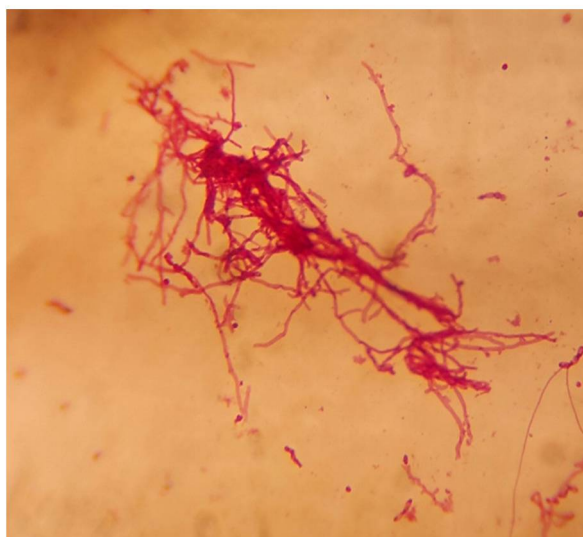
مرد بیست ساله ای بدون سابقه بیماری خاص به علت سردرد، ضعف، خواب آلودگی و بی‌اختیاری ادرار به بیمارستان الزهرا (س) مراجعه نمود. بیمار تب، لرز و حالت تهوع نداشت و در معاینات دقیق تر $GCS=532$ و مردمکهای مید سایز و ری‌اکتیو داشت. در معاینات رادیولوژیک ضایعه هیپودنس سمت چپ با شیفت میدلاین بدون هیدروسفالی و هماتوم حاد مشاهده شد (شکل ۱) و در نتایج آزمایشات برای این بیمار قند تصادفی ۷۲ mg/dL، نیتروژن اوره خون (BUN) ۸ mg/dL، کراتینین ۱۰ mg/dL، سدیم ۱۴۱ mEq/L، پتاسیم ۴.۸ mEq/L، WBC 5200، Hb ۱۱.۴ g/dL، MCV 91.8 fL، Hematocrit 34.7%، Platelets 242000، 58.8% بود. بیمار با تشخیص اولیه سابدورال آمپیم تحت عمل جراحی قرار گرفت و آبسه مغزی مشاهده شد و ترشحات آن تخلیه و به آزمایشگاه ارسال شد.

در آزمایشگاه میکروب شناسی ترشحات بیمار بر روی محیط - های بلاد آگار و شکلات آگار و در دمای ۳۷°C انکوبه گردید. بعد از ۴ روز کلنی‌های سفید گچی کوچک مشاهده گردید. کلنی‌های

موجود توسط رنگ‌آمیزی گرم، ذیل نلسون و کانیون بررسی شد که طی بررسی میکروسکوپی باکتری‌های رشته‌ای و کوکوباسیل‌های گرم مثبت و اسیدفاست نسبی مشاهده شد (شکل ۲). کلنی‌های حاصل بر روی محیط ژلوز گلوکوز عصاره مخمر (GYEA) که یک لیتر آن حاوی ۱۰۰ گرم گلوکز، ۱۵ گرم آگار و ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۵۰ درصد عصاره قارچ می‌باشد، ساب کالچر داده شدند. با توجه به نتایج بررسی‌های میکروسکوپی و مورفولوژی کلنی، باکتری مورد نظر مشکوک به نوکاریدیا گزارش گردید. باکتری مشکوک توسط تست‌های بیوشیمیایی از قبیل: مقاومت به لیزوزیم، تجزیه گزانتین، هیپوگزانتین، تیروزین و کازئین، احیای نیترات، تجزیه اوره و سیترات و رشد در دمای ۴۵°C و تجزیه و تحلیل توالی ژن ۱۶ rRNA S مورد شناسایی قرار گرفت (۵، ۱). برای شناسایی مولکولی باکتری مورد نظر ابتدا ژنوم باکتری (با توجه به نوکاریدیا بودن) با روش Pitcher استخراج شد (۶). سپس شناسایی گونه با استفاده از یک منطقه ۵۹۶ bp از ژن ۱۶ rRNA S به کمک پرایمرهای NG1(Forward): 5'-ACCGACCACAAGGGG-3' و NG2(Reverse): 5'-GGTTGTAACCTCTTCGA-3' در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) تکثیر شد؛ فرآیند تکثیر DNA با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر بافر X10، ۰/۸ میکرولیتر MgCl2، ۰/۴ میکرولیتر dNTP، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر، ۰/۲۵ میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymerase، ۲/۵ میکرولیتر DNA و آب مقطر بود. برنامه دمایی PCR شامل: واسرشت اولیه (Initial denaturation) در ۹۴°C به مدت ۱۱ دقیقه، و سی دوره شامل: یک دقیقه واسرشت (Denaturation) در ۹۴°C، اتصال (Annealing) در دمای ۵۵°C به مدت ۲۰ ثانیه و یک دقیقه گسترش (Extension) در ۷۲°C همچنین در پایان گسترش نهایی (Final extension) به مدت ده دقیقه در دمای ۷۲°C انجام شد (۷). در نهایت محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در ولتاژ ۹۵ میلی‌ولت الکتروفورز (شکل ۳) و جهت تعیین توالی برای شرکت مربوطه ارسال شد. توالی نوکلئوتیدی این ایزوله به کمک نرم افزار Blast (موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI) بررسی شد و شباهت توالی باکتری مورد نظر با اطلاعات موجود در GenBank مقایسه گردید. با توجه به نتایج تست‌های بیوشیمیایی و مولکولی باکتری مورد نظر به عنوان نوکاریدیا سیریاسیجورجیکا شناسایی شد. با توجه به شرایط بیمار و نتایج آنتی‌بیوگرام باکتری مورد نظر برای بیمار داروهای کوتریموکسازول، لینزولاید، آمیکاسین، فنی‌توئین، رانیتیدین، سرتالین و آمپول امنی‌اسکن تجویز شد.



شکل ۱: CT اسکن مغز بیمار



شکل ۲: رنگ آمیزی کانیون (اسید فاست نسبی)



شکل ۳: الکتروفورز قسمتی از ژن ۱۶ rRNA (قطعه ۵۹۶ جفت باز) ستون سمت چپ نشانگر DNA، ستون وسط کنترل مثبت نوکاردیا آستروئیدس ATCC 14759 و ستون سمت راست نوکاردیا جدا شده از بیمار

بحث

خود راه یافته و عفونت‌های ریوی، عصبی و جلدی را به وجود می‌آورد. با توجه به مشکلاتی که در رابطه با تشخیص عفونت‌های نوکاردیایی وجود دارد، تشخیص صحیح عفونت‌های نوکاردیایی بیماران به ویژه بیماران نقص سیستم ایمنی، از اقدامات مهم و اساسی در آزمایشگاه میکروب‌شناسی به حساب می‌آید.

قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد آقای سپهر نوید به شماره ۳۹۵۰۸۰ می‌باشد. پژوهش حاضر در آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گرفت. از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به خاطر حمایت و ایجاد زمینه اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مالی

حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی تحت شماره گرنت ۳۹۵۰۸۰ از طرف دانشگاه علوم پزشکی اصفهان صورت پذیرفته است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأیید اخلاقی شده و با کد IR.MUI.REC.1395.3.080 در سامانه ثبت کارآزمایی‌های بالینی ایران به ثبت رسیده است.

مشارکت مولفان

نوید س و کیخا م، بیماریابی و انجام آزمایشات، خورشیدی م و سی سخت پور ب، نگارش اولیه مقاله، کیخا م، ویرایش و اصلاحات مقاله، تمام همکاران نسخه نهایی را مطالعه و برای ارسال به مجله دانشگاه علوم پزشکی تبریز تأیید کرده اند.

آبسه‌های نوکاردیایی ۲٪ از آبسه‌های مغزی را به خود اختصاص می‌دهند و بیشتر بیماران نقص سیستم ایمنی را درگیر می‌کنند. در جریان آبسه‌های مغزی نوکاردیایی در بیشتر موارد، کانون عفونت در سایر نقاط بدن از جمله ریه قرار دارد و توسط جریان خون به سیستم عصبی انتشار می‌یابد. هر چند آمار و ارقام آبسه‌های مغزی حاصل از گونه‌های نوکاردیا در مقایسه با سایر آبسه‌های مغزی ناچیز است اما به دلیل ماهیت کند رشد باکتری و عدم تشخیص، در مقایسه با سایر آبسه‌های مغزی آمار مرگ و میر بالایی دارند؛ به طوری که در بیماران نقص سیستم ایمنی میزان مرگ و میر بالاتر از ۵۵٪ و در بیماران با سیستم ایمنی کارآمد بیش از ۲۰٪ گزارش شده است (۸-۱۰). با توجه به اینکه تظاهرات بالینی و عکس‌های رادیولوژی در بیماران مبتلا به تومورهای مغزی و آبسه‌های نوکاردیایی مشابه هستند لذا امکان بروز اشتباه در تشخیص وجود دارد و به منظور درمان صحیح و مؤثر بیماران می‌باید تشخیص به درستی صورت گیرد (۱۱-۱۲). امروزه شیوع عفونت‌های نوکاردیایی با توجه به افزایش شمار بیماران نقص سیستم ایمنی و بهبود روش‌های تشخیصی در حال افزایش است (۱۲). در مطالعه Fleetwood و همکاران در سال ۲۰۰۰ سه بیمار مبتلا به آبسه مغزی نوکاردیایی گزارش شد که هر سه بیمار مرد و دوتای آن مسن بودند و هر دوی این بیماران به مشکلات تنفسی دچار بودند (۱۳). Christopher و همکاران در مطالعه‌ای دیگر گزارش موردی از آبسه مغزی حاصل از نوکاردیا فارسیجیکا را منتشر کردند که تظاهرات آن مشابه تومور مغزی بود. بیمار این گزارش مردی ۶۸ ساله بود که سیستم ایمنی سالم داشت و مانند بیمار این مطالعه دچار آبسه مغزی در ناحیه چپ تمپورال خود بود (۱۴). Barnaud و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش موردی از آبسه مغزی حاصل از نوکاردیا سیریا سیرجورجیکا منتشر کردند. بیمار این مطالعه مرد ۳۳ ساله آلوده به ویروس HIV بود (۱۵). در مطالعه حاضر گونه جداسازی شده با استفاده از تست‌های مرسوم و مولکولی به عنوان نوکاردیا سیریا سیرجورجیکا تشخیص داده شد و با توجه به الگوی آنتی-بیوگرام برای بیمار کوتریموکسازول، آمیکاسین و لینزولاید تجویز شد.

نتیجه‌گیری

نوکاردیا، باکتری گرم مثبت هوازی و غیر متحرکی است که در محیط پراکنده است و از طریق پوست یا استنشاق به بدن می‌زبان

References

1. Brown-Elliott B A, Brown J M, Conville P S, Wallace R J. Clinical and laboratory features of the Nocardia spp. based on current molecular taxonomy. *Clin Microbiol Rev* 2006; **19**(2): 259-282. doi: 10.1128/CMR.19.2.259-282.2006
2. Boiron P, Provost F, Chevrier G, Dupont B. Review of nocardial infections in France 1987 to 1990. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; **11**(8): 709-714. doi: 10.1007/BF01989975.

3. Malincarne L, Marroni M, Farina C, Camanni G, Valente M, Belfiori B, et al. Primary brain abscess with *Nocardia farcinica* in an immunocompetent patient. *Clin Neurol Neurosurg* 2002; **104**(2): 132-135. doi: 10.1016/S0303-8467(01)00201-3
4. Cargill J S, Boyd G J, Weightman N C. *Nocardia cyriacigeorgica*: a case of endocarditis with disseminated soft-tissue infection. *J Med Microbiol* 2010; **59**(2): 224-230. doi: 10.1099/jmm.0.011593-0
5. Ekrami A, Khosravi A D, Zadeh ARS, Hashemzadeh M. *Nocardia* co-infection in patients with pulmonary tuberculosis. *Jundishapur J Microbiol* 2014; **7**(12). doi: 10.5812/jjm.12495
6. Goh KS, Legrand E, Sola C, Rastogi N. Rapid differentiation of "Mycobacterium canettii" from other *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms by PCR-restriction analysis of the *hsp65* gene. *Journal of Clinical Microbiology* 2001; **39**(10): 3705-3708. doi: 10.1128/JCM.39.10.3705-3708.2001
7. Eshraghi S S, Heidarzadeh S, Soodbakhsh A, Pourmand M, Ghasemi A, GramiShoar M, et al. Pulmonary nocardiosis associated with cerebral abscess successfully treated by co-trimoxazole: a case report. *Folia microbiologica* 2014; **59**(4): 277-281. doi: 10.1007/s12223-013-0298-7
8. Menkü A, Kurtsoy A, Tucer B, Yıldız O, Akdemir H. *Nocardia* brain abscess mimicking brain tumour in immunocompetent patients: report of two cases and review of the literature. *Acta Neurochir* 2004; **146**(4): 411-414. doi: 10.1007/s00701-004-0215-6
9. Xu Q, Zhan R, Feng Y, Chen J. Successful Treatment of Multifoci Nocardial Brain Abscesses: A Case Report and Literature Review. *Medicine* 2015; **94**(19). doi: 10.1097/MD.0000000000000848
10. Alijani N, Mahmoudzadeh S, Yaghoobi M H, Jafari S. Multiple brain abscesses due to *Nocardia* in an immunocompetent patient. *Arch Iran Med* 2013; **16**(3): 192. doi: 10.13163/AIM.0015
11. Pascual-Gallego M, Alonso-Lera P, Arribi A, Barcia JA, Marco J. *Nocardia farcinica* abscess of the cerebellum in an immunocompetent patient: A case report and review of the literature. *Asian J Neurosurg* 2016; **11**(4): 454. doi: 10.4103/1793-5482.145179
12. Schlaberg R, Huard RC, Della-Latta P. *Nocardia cyriacigeorgica*, an emerging pathogen in the United States. *J Clin Microbiol* 2008; **46**(1): 265-273. doi: 10.1128/JCM.00937-07
13. Fleetwood IG, Embil JM, Ross IB. *Nocardia asteroides* cerebral abscess in immunocompetent hosts: report of three cases and review of surgical recommendations. *Surg Neurol* 2000; **53**(6): 605-610. doi:10.1016/S0090-3019(00)00242-1
14. Iannotti C A, Hall G S, Procop G W, Tuohy M J, Staugaitis S M, Weil R J, et al. Solitary *Nocardia farcinica* brain abscess in an immunocompetent adult mimicking metastatic brain tumor: rapid diagnosis by pyrosequencing and successful treatment. *Surg Neurol* 2009; **72**(1): 74-79. doi: 10.1016/j.surneu.2008.02.025
15. Barnaud G, Deschamps C, Manceron V, Mortier E, Laurent F, Bert F, et al. Brain abscess caused by *Nocardia cyriacigeorgica* in a patient with human immunodeficiency virus infection. *J Clin Microbiol* 2005; **43**(9): 4895-4897. doi: 10.1128/JCM.43.9.4895-4897.2005