

Original Article

Mortality Attributable To High Blood Pressure for Cardiovascular Diseases in the West Azerbaijan Province 25–64 Years Old Population

Taher Ahangari¹ , Sima Masudi^{2,3} , Shaker Salarilak^{4*} 

¹Master Student of Epidemiology, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.

²Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Medicine, Urmia University of Medical Science, Urmia, Iran.

³Nephrology and Kidney Transplant Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

⁴Department of Public Health, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

*Corresponding author; E-mail: salarilak@yahoo.com, salari@iaut.ac.ir

Received: 31 December 2016 Accepted: 9 March 2017 First Published online: 17 January 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):7-13

Abstract

Background: Cardiovascular disease is the main cause of death in many countries in the world, including Iran. High blood pressure is one of the most common risk factors for cardiovascular disease. The aim of this study was to estimate the deaths from cardiovascular diseases and all cause attributed to high blood pressure in West Azarbaijan province.

Methods: In this study, the required data about the prevalence of hypertension was obtained from a national study on the prevalence and risk factors of hypertension in Iranian adults. The corresponding effect size for death from ischemic heart diseases, stroke and all-cause mortality were obtained from the results of a study on the data of Golestan cohort study. Data on the number of deaths by sex and the cause of death were obtained from the Death Registration System of the West Azerbaijan province.

Results: Cardiovascular disease accounted for 27% of deaths in the 25-64 years age group. The population attributable fractions of hypertension for death from ischemic heart disease, stroke and all cause death for men were 14.4%, 26.1% and 6.4%, respectively. In women they were 18.6%, 32.4% and 8.1%, respectively. The number of deaths attributed to the hypertension for aforementioned causes in men was 46, 30 and 154, respectively. In women they were 29, 28 and 120, respectively.

Conclusion: Blood pressure has a significant contribution in death from cardiovascular diseases, especially stroke. It emphasize on the importance of programs for controlling and preventing hypertension to reduce its associated deaths in the province as one of the priorities of health programs.

Keyword: Population Attributable Fraction, High Blood Pressure, Mortality Attributable, All-cause Mortality, Cardiovascular Diseases.

How to cite this article: Ahangari T, Masudi S, Salarilak Sh. [Mortality Attributable To High Blood Pressure for Cardiovascular Diseases in the West Azerbaijan Province 25–64 Years Old Population]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March;40(6):7-13. Persian.

مقاله پژوهشی

میرایی قابل انتساب به فشار خون بالا برای بیماری های قلبی عروقی در جمعیت ۶۴-۲۵ سال استان آذربایجان غربی

طاہر آہنگری^۱ ID، سیما مسعودی^۲ ID، شاکر سالاری لک^{۳*} ID

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد اپیدمیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.
^۲ گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.
^۳ مرکز تحقیقات نفرولوژی و پیوند کلیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.
^۴ گروه بهداشت عمومی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران.
* نویسنده مسؤل؛ ایمیل: salari@iaut.ac.ir و salarilak@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۶/۹/۸ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۶ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. بهمن و اسفند ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶):۷-۱۳

چکیده

زمینه: بیماری های قلبی عروقی اولین علت مرگ، در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران است و فشارخون بالا یکی از شایع ترین عوامل خطر بیماری های قلبی عروقی در سطح جهان می باشد. این مطالعه با هدف برآورد مرگ های ناشی از بیماری های قلبی عروقی متناسب به فشار خون بالا در استان آذربایجان غربی انجام شد.

روش کار: در این مطالعه برای محاسبه سهم متناسب جمعیتی و میرایی متناسب، برای شیوع فشارخون بالا از داده های یک مطالعه ملی شیوع و عوامل خطر فشارخون بالا در بزرگسالان ایرانی استفاده شد. اندازه های اثر فشارخون بالا به عنوان عامل خطر مرگ (از بیماری های ایسکمیک قلبی، سکته های مغزی و مرگ از کلیه علل) از نتایج مطالعه همگروهی گلستان بدست آمد. داده های مربوط به تعداد مرگ ها به تفکیک جنس و علت مرگ از نظام ثبت مرگ استان آذربایجان غربی اخذ شد.

یافته ها: در گروه سنی ۶۴-۲۵ سال ۲۷٪ مرگ ها ناشی از بیماری های قلبی عروقی بود. سهم متناسب جمعیتی فشارخون بالا برای مرگ از بیماری ایسکمیک قلبی در مردان ۱۴/۴ درصد و در زنان ۱۸/۶ درصد، برای سکته مغزی در مردان ۲۶/۱ درصد و در زنان ۳۲/۴ درصد و برای مرگ از کلیه علل در مردان ۶/۴ درصد و در زنان ۸/۱ درصد برآورد گردید. میزان میرایی متناسب به فشارخون بالا برای مرگ از بیماری ایسکمیک قلبی، سکته مغزی و میرایی از کلیه علل در مردان به ترتیب ۴۶، ۳۰ و ۱۵۴ مورد و در زنان به ترتیب ۲۹، ۲۸ و ۱۲۰ مورد بود.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه سهم قابل توجه فشارخون در رخداد مرگ و میر از بیماری های قلبی عروقی به ویژه سکته مغزی را نشان می دهد و بر اهمیت برنامه های کنترل و پیشگیری از فشارخون بالا برای کاهش مرگ های متناسب به آن در استان به عنوان یکی از اولویت های برنامه های بهداشتی تاکید می کند.

کلید واژه ها: سهم متناسب جمعیتی، میرایی متناسب، میرایی از همه علل، فشارخون بالا، بیماری های قلبی عروقی

نحوه استناد به این مقاله: آهنگری ط، مسعودی س، سالاری لک ش. میرایی قابل انتساب به فشار خون بالا برای بیماری های قلبی عروقی در جمعیت ۶۴-۲۵ سال استان آذربایجان غربی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶):۷-۱۳

حق تألیف برای مؤلف 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

بیماری‌های قلبی عروقی یکی از علل عمده مرگ و میر در سطح جهان بوده و به عنوان اولین عامل مرگ، سهم یک سوم کل مرگ و میرها را در جهان بخود اختصاص می‌دهند (۱). در سال ۲۰۱۵ از ۷۳٪ موارد مرگ ناشی از بیماری‌های غیرواگیر سهم بیماری‌های قلبی عروقی بیش از ۴۸٪ بوده بطوری که بیش از ۲۰ میلیون مورد از ۶۴ میلیون مرگ مربوط به بیماری‌های قلبی عروقی بوده است (۲). پیش بینی شده است که تعداد مرگ از بیماری‌های قلبی عروقی تا سال ۲۰۳۰ به ۲۳/۶ میلیون نفر افزایش خواهد یافت (۳-۴). در کشورهای واقع در حوزه‌ی مدیترانه شرقی نیز بیماری‌های قلبی عروقی علت اول مرگ را تشکیل می‌دهند (۵). در ایران ۳۹٪ کل مرگ‌ها در کشور به این گروه از بیماری‌ها اختصاص دارد (۶) و در سال ۱۳۹۰، از ۳۸۰ هزار مرگ ثبت شده در ایران ۹۲ هزار نفر به علت سکته قلبی (۲۵٪) و ۴۳ هزار نفر به علت سکته مغزی (۱۳٪) فوت کرده‌اند (۷).

فشارخون بالا یکی از مهمترین عوامل خطر بروز بیماری‌های قلبی عروقی و شایعترین عامل بروز بیماری‌های قلبی عروقی در بسیاری از کشورها است به طوری که از هر ۴ فرد بزرگسال یک نفر مبتلا به فشار خون بالا است (۳). در آمریکا ۲۵٪ مردان و ۲۱٪ زنان دارای فشار خون بالا هستند (۸). همچنین فشارخون بالا یکی از علل اصلی مرگ و میر در سطح جهان است و ۱۸٪ از مرگ‌ها در جهان به آن نسبت داده می‌شود (۹). در مطالعه‌ای در آمریکا با هدف برآورد مرگ‌های اختصاصی بیماری متناسب به مواجهه با عوامل خطر صورت گرفته است فشارخون بالا بعد از سیگار دومین علت مرگ بوده و ۳۹۵ هزار مرگ به آن متناسب شده است (۱۰). در ایران فشارخون بالا در سال ۱۳۹۱ علت ۴۱ هزار مرگ در مردان و ۳۹ هزار مرگ در زنان بوده است. در تمامی مناطق ایران بیشترین موارد مرگ به فشارخون بالا متناسب بوده است و میزان آن در منطقه شمال-شمال شرقی و منطقه غربی کشور (شامل استان آذربایجان غربی) بیشتر از سایر مناطق برآورد شده و میزان مرگ بین ۳۱۰ تا ۳۳۰ مرگ در هر صد هزار فرد بالغ در هر دو جنس بوده است (۱۱).

در بین علل مرگ در استان آذربایجان غربی، بیماری‌های قلبی عروقی خصوصاً بیماری‌های ایسکمیک قلبی و سکته مغزی بیشترین سهم را به خود اختصاص داده اند. با این وجود اطلاعی در زمینه سهم عوامل خطر در بار مرگ و میر بیماری‌های قلبی عروقی در استان آذربایجان غربی وجود ندارد. سهم متناسب جمعیتی (Population Attributable Fraction, PAF) که کاهش نسبی در تعداد مرگ را برای هر علت بیماری یا مرگ به موازات کاهش توزیع عامل خطر مورد نظر، نشان می‌دهد (۱۲)، شاخص بسیار مهمی برای برنامه‌ریزی و سیاست‌گذاری پیشگیرانه در حوزه سلامت است، بطوری که با برآورد سهم متناسب جمعیتی

فشارخون بالا برای مرگ از بیماری‌های قلبی عروقی می‌توان نشان داد که اگر فشارخون بالا در جمعیت حذف شود چه مقدار از مرگ‌های متناسب به آن در اثر بیماری‌های قلبی عروقی (بیماری‌های ایسکمیک قلبی و سکته مغزی) کاهش خواهد یافت. به همین جهت این مطالعه با هدف محاسبه مرگ و میر متناسب به فشارخون بالا برای مرگ و میر بیماری‌های قلبی عروقی و مرگ و میر از همه علل در استان آذربایجان غربی در سال ۱۳۹۳ انجام شد، نتایج این مطالعه می‌تواند در طراحی برنامه‌های پیشگیری مناسب برای حفظ و ارتقای سلامت جامعه استان آذربایجان غربی کمک کننده باشد.

روش کار

مطالعه حاضر با استفاده از داده‌های ثانویه شیوع فشارخون بالا، و اندازه اثر آن برای میرایی از بیماری‌های ایسکمیک قلبی، سکته مغزی و مرگ از کلیه علل از مطالعات قبلی، و داده‌های مرگ از نظام ثبت مرگ استان آذربایجان غربی برای سال ۱۳۹۳ انجام شد. برای برآورد شیوع فشارخون بالا در این مطالعه از برآورد کشوری شیوع این عامل از مطالعه Janghorbani و همکاران (۱۳) که در سال ۱۳۸۸ انجام شده، استفاده شد که در آن شیوع فشارخون بالا برای دامنه سنی ۶۴-۲۵ سال و با استفاده از روش STEPS برآورد شده است. برآوردهای گزارش شده اختصاصی سنی شیوع فشارخون بالا در این مطالعه به برآوردهای اختصاصی سنی مطالعه STEPS برای استان آذربایجان غربی نزدیک بود (در مطالعه آذربایجان غربی به دلیل شیوع بسیار پایین فشارخون بالا در گروه سنی ۲۴-۱۵ سال شیوع برای دامنه سنی ۶۴-۱۵ سال خیلی پایین تر از دامنه سنی ۶۴-۲۵ بود).

در این مطالعه، برای برآورد اندازه اثر فشارخون بالا از نتایج مطالعه Sepanlou و همکاران (۱۴)، روی داده‌های مطالعه همگروهی گلستان با ۵۰۰۰۰ شرکت کننده استفاده گردید که تنها مطالعه‌ای است که در آن مخاطره نسبی برای فشارخون بالا در رابطه با مرگ از بیماری‌های ایسکمیک قلبی، سکته مغزی و مرگ از همه علل برآورد شده است. در این مطالعه فشارخون بالا به صورت فشارخون سیستولی بالای ۱۴۰ و/ یا فشارخون دیاستولی بالای ۹۰ میلی‌متر جیوه یا تحت درمان بودن با داروهای کاهنده فشارخون تعریف شده و مخاطره نسبی برای این تعریف در مقابل فشار خون طبیعی با تعریف فشار خون سیستولی و دیاستولی کمتر از ۱۴۰/۹۰ میلی‌متر جیوه برآورد شده است. برآوردهای مخاطره نسبی به صورت خام و تطبیق شده ارائه شده بود که در این مطالعه از برآوردهای خام مخاطره نسبی استفاده شد.

داده‌های مربوط به تعداد مرگ‌ها به تفکیک جنس و علت زمینه‌ای برای گروه سنی ۶۴-۲۵ سال از نظام ثبت مرگ اخذ شد.

یافته‌ها

در سال ۱۳۹۳ در استان آذربایجان غربی ۱۳۷۱۶ مرگ در نظام ثبت مرگ ثبت شده بود که ۵۲۶۹ مرگ (۳۸/۴ درصد) مربوط به بیماری‌های دستگاه گردش خون بود. از کل مرگ‌های ثبت شده در برنامه ثبت مرگ استان، ۳۷۹۷ مرگ در گروه سنی ۲۵-۶۴ رخ داده بود که ۱۰۱۷ مورد (۲۶/۸٪) آن ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی بود؛ از این تعداد ۴۷۳ مورد مرگ به علت بیماری‌های ایسکمیک قلبی، ۲۰۱ مورد مرگ ناشی از سکته‌های مغزی و ۱۴۲ مورد مرگ به علت بیماری‌های فشارخون و ۲۰۱ مورد ناشی از سایر بیماری‌های قلبی عروقی بود. برای هر سه علت مرگ مورد بررسی (مرگ از بیماری‌های ایسکمیک قلبی، سکته‌های مغزی و مرگ از همه علل) تعداد مرگ‌ها در مردان در مقایسه با زنان بیشتر بود. به ویژه در مورد بیماری‌های ایسکمیک قلبی تعداد مرگ‌ها در مردان دو برابر زنان بود (۳۱۹ در مقابل ۱۵۴). با این حال برای هر سه علت مرگ مورد بررسی، سهم قابل انتساب جمعیتی مرگ به فشارخون بالا در زنان از مردان بیشتر بود. در کل سهم متناسب جمعیتی فشارخون بالا برای مرگ از سکته مغزی در مقایسه با دو علت دیگر در هر دو جنس بیشتر بود، اما بیشترین تعداد مرگ متناسب به فشارخون بالا برای مرگ از همه علل در مردان (۱۵۴ مورد مرگ) و پس از آن مرگ از همه علل در زنان (۱۲۰ مورد مرگ) مشاهده شد. بیشترین عدم قطعیت در برآوردهای انجام شده مربوط به برآوردهای سهم قابل انتساب میرایی برای سکته‌های مغزی بود و در مورد تعداد مرگ‌ها بیشترین عدم قطعیت به ترتیب در تعداد مرگ از کلیه علل در مردان و زنان و پس از آن در تعداد مرگ از بیماری‌های ایسکمیک قلبی در مردان مشاهده شد (جدول ۱).

بر اساس نسخه دهم طبقه‌بندی بین المللی بیماری‌ها (ICD10) تعداد مرگ‌های ناشی از بیماری‌های ایسکمیک قلبی (ICD10 code: I20-I25 و I46/۸۰، ICD10 code: I70)، سکته‌های مغزی (ICD10: I60-I69) و همچنین مرگ از همه‌ی علل به تفکیک جنس برای گروه سنی ۲۵-۶۴ سال استان آذربایجان غربی در سال ۱۳۹۳ وارد مطالعه شد. محاسبه سهم متناسب جمعیتی با استفاده از فرمول زیر صورت گرفت (۱۵):

$$PAF = \frac{P_e(RR - 1)}{P_e(RR - 1) + 1}$$

که در آن RR اندازه اثر عامل خطر، P_e شیوع عامل خطر در جمعیت است. در این مطالعه به جای RR از برآوردهای مخاطره نسبی خام که قبلاً ذکر شد. برای محاسبه سهم متناسب جمعیتی استفاده شد. مخاطره نسبی در مقایسه با خطر نسبی شاخصی قوی برای سنجش رابطه بین مواجهه با پیامد است. علاوه بر این، با استفاده از فرمول زیر مرگ‌های متناسب برای هر پیامد به تفکیک جنس محاسبه شد:

$$AM = PAF \times M$$

که در آن M تعداد مرگ از علت مورد نظر و AM مرگ متناسب برای عامل خطر است.

برای برآورد عدم قطعیت در سهم متناسب جمعیتی و تعداد مرگ‌های قابل انتساب به فشارخون بالا برای سه علت مرگ مورد بررسی به علت وجود تغییرپذیری نمونه‌برداری در برآوردهای مورد استفاده یک تحلیل حساسیت با استفاده از دامنه‌های بالا و پایین برآوردهای اندازه اثر و برآوردهای شیوع فشارخون بالا، انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از دو فرمول ذکر شده و فرمول نویسی در نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

جدول ۱: سهم متناسب جمعیتی و میرایی متناسب به فشارخون بالا برای مرگ از بیماری‌های قلبی عروقی و میرایی از همه علل برای زنان و مردان استان آذربایجان غربی در سال ۱۳۹۳

میرایی از	نسبت مخاطره* (%۹۵ CI#)	شیوع فشار خون بالا ^۱ (%۹۵ CI)	PAF* (%۹۵ CI)	تعداد مرگ‌ها	میرایی متناسب (عدم قطعیت %۹۵)
مردان					
بیماری‌های ایسکمیک قلبی	۱/۸۵ (۱/۶۰-۲/۱۴)	۱۹/۸ (۱۹/۴-۲۰/۳)	۱۴/۴ (۱۰/۴-۱۸/۸)	۳۱۹	۴۶ (۳۳-۶۰)
سکته مغزی	۲/۸۸ (۲/۲۵-۳/۴۱)	۱۹/۸ (۱۹/۴-۲۰/۳)	۲۶/۱ (۱۹/۵-۳۲/۹)	۱۱۶	۳۰ (۲۳-۳۸)
همه علل	۱/۳۵ (۱/۲۶-۱/۴۶)	۱۹/۸ (۱۹/۴-۲۰/۳)	۶/۵ (۴/۸-۸/۵)	۲۴۰۳	۱۵۴ (۱۱۵-۲۰۵)
زنان					
بیماری‌های ایسکمیک قلبی	۱/۸۵ (۱/۶۰-۲/۱۴)	۲۶/۹ (۲۶/۴-۲۷/۴)	۱۸/۶ (۱۳/۷-۲۳/۸)	۱۵۴	۲۹ (۲۱-۳۷)
سکته مغزی	۲/۸۸ (۲/۲۵-۳/۴۱)	۲۶/۹ (۲۶/۴-۲۷/۴)	۳۲/۴ (۲۴/۸-۳۹/۸)	۸۵	۲۸ (۲۱-۳۴)
همه علل	۱/۳۵ (۱/۲۶-۱/۴۶)	۲۶/۹ (۲۶/۴-۲۷/۴)	۸/۶ (۶/۴-۱۱/۲)	۱۳۹۴	۱۲۰ (۹۰-۱۵۶)

* نسبت مخاطره از نتایج مطالعه سپانلو و همکاران (۱۴) (برآورد نسبت مخاطره برای تعریف فشارخون بالا به صورت فشارخون سیستولی ≥ 140 میلی‌متر جیوه و یا فشار خون دیاستولی ≥ 90 میلی‌متر جیوه یا تحت درمان بودن با داروهای ضد فشارخون تعریف شده در مقابل فشارخون نرمال به صورت فشارخون سیستولی < 140 میلی‌متر جیوه و یا فشار خون دیاستولی < 90 میلی‌متر جیوه انجام شده بود) $\#$ ۹۵٪ CI: فاصله اطمینان ۹۵٪ ^۱ برآوردهای شیوع از نتایج مطالعه Janghorbani و همکاران (...)

PAF*: سهم متناسب جمعیت

بحث

مرگ از بیماری های قلبی عروقی در سال ۱۳۹۳ اولین علت مرگ و میر در استان آذربایجان غربی را تشکیل می داد (۳۸٪ کل مرگ ها). در این مطالعه سهم منتسب جمعیتی و میرایی منتسب به فشارخون بالا (به عنوان مهم ترین و شایع ترین عامل خطر قابل پیشگیری برای مرگ از بیماری های قلبی عروقی) برای مرگ از بیماری های ایسکمیک قلبی، سکنه مغزی و مرگ از همه ی علل در گروه سنی ۶۴-۲۵ سال در استان آذربایجان غربی بالا برآورد شد. به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که سهم منتسب جمعیتی فشارخون بالا برای مرگ از علل مورد نظر در زنان بیشتر از مردان، برای مرگ از سکنه مغزی بیشتر از مرگ از بیماری های ایسکمیک قلبی و مرگ از همه علل بود. از طرف دیگر بیشترین تعداد میرایی منتسب به فشارخون بالا مربوط به مرگ و میر از همه علل و پس از آن مرگ و میر از بیماری های ایسکمیک قلبی بود و همچنین میرایی منتسب به این عامل برای هر سه علت مرگ در مردان بیشتر از زنان بود.

در این مطالعه سهم منتسب جمعیتی فشارخون بالا برای مرگ از سکنه مغزی نسبت به مرگ از بیماری ایسکمیک قلبی در هر دو جنس بیشتر بود. دلیل این تفاوت ها بدین علت است نسبت مخاطره فشارخون بالا برای مرگ از سکنه مغزی عامل علیتی قوی تری است تا برای مرگ از بیماری های ایسکمیک قلبی (۲/۷۸ در مقابل ۱/۸۵). اما به هر حال به علت بالا بودن مرگ و میر از بیماری های ایسکمیک قلبی نسبت به سکنه مغزی، تعداد میرایی منتسب به فشارخون بالا برای مرگ از بیماری ایسکمیک قلبی به ویژه در مردان بیشتر بود.

سهم منتسب جمعیتی فشارخون بالا برای مرگ از بیماری ایسکمیک قلبی، سکنه مغزی و مرگ از همه ی علل در زنان بیشتر از مردان بود ولی میرایی منتسب به فشارخون بالا برای هر یک از علل مرگ در مردان نسبت به زنان بیشتر بود. با توجه به استفاده از یک اندازه اثر مشترک برای زنان و مردان، دلیل تفاوت در خطر منتسب جمعیتی، شیوع بالای فشارخون بالا در زنان نسبت به مردان است اما به علت بالاتر بودن تعداد مرگ ها در مردان، میرایی منتسب به پرفشاری در مردان برای هر سه علت مرگ بیشتر از زنان است. در مطالعه Farzadfar و همکاران هم با وجود بالاتر بودن سهم منتسب جمعیتی چهار عامل خطر متابولیک (فشارخون، قند خون، کلسترول تام و نمایه توده بدنی) در زنان نسبت به مردان، تعداد مرگ های منتسب به این عوامل خطر در مردان بیشتر بود که دلیل آن تعداد بیشتر مرگ های مشاهده شده در مردان بود که با نتایج این مطالعه هم خوانی دارد (۱۱). اما در مطالعه He و همکاران در چین سهم منتسب جمعیتی برای سطح فشارخون بالا در مردان بیشتر از و در زنان (۵۱/۹ درصد در مقابل ۴۹/۱ درصد) برآورد شده است (۱۶)، که با نتایج مطالعه حاضر که خطر قابل

انتساب در زنان بیشتر از مردان بود تفاوت دارد. علل این تفاوت می تواند شیوع بیشتر فشارخون بالا و همچنین اندازه اثر بالاتر برای فشارخون بالا در رابطه با مرگ از این بیماری ها در مردان چینی باشد. علاوه بر این در مطالعه چین برای هر جنس از اندازه اثرهای متفاوتی استفاده شده است در حالی که در مطالعه حاضر اندازه اثرهای مورد استفاده برای دو جنس یکسان در نظر گرفته شده است.

مطالعاتی که در کشورهای مختلف انجام شده اند نتایج متفاوتی را برای سهم قابل انتساب جمعیتی فشارخون بالا ارائه کرده اند. Ikeda و همکاران در ژاپن سهم قابل انتساب جمعیتی فشارخون بالا برای میرایی از سکنه مغزی را در مردان ۶۷٪ و در زنان ۲۹٪ و میرایی از کل بیماری های قلبی عروقی در مردان ۳۸٪ و در زنان ۳۶٪ برآورد کردند (۱۷). در مطالعه Martiniuk و همکاران در ۱۵ کشور در منطقه آسیا پاسیفیک (۱۸) شیوع فشارخون بالا از ۴۷-۵ درصد در مردان و ۳۸-۷ درصد در زنان متفاوت بوده و سهم منتسب جمعیتی محاسبه شده فشارخون بالا برای مرگ از بیماری ایسکمیک قلبی در مردان ۲۸-۴ درصد و در زنان ۳۹-۸ درصد و برای مرگ از سکنه مغزی ۶۶-۱۸ درصد در مردان و ۴۹-۱۵ درصد در زنان بود. در این مطالعه سهم خطر قابل انتساب به فشارخون بالا برای مرگ از بیماری های ایسکمیک قلبی در مردان و زنان به ترتیب ۱۴/۴ و ۱۸/۶ درصد و برای مرگ از سکنه های مغزی ۲۶/۱ و ۳۲/۴ درصد بود، که به نتایج مطالعه Martiniuk و همکاران نزدیک است. اما نتایج این مطالعه با مطالعه Farzadfar و همکاران (۱۱) که در سال ۱۳۹۱ در ایران انجام شد تفاوت دارد. در مطالعه Farzadfar و همکاران سهم منتسب جمعیتی فشارخون بالا برای میرایی از بیماری های ایسکمیک قلبی و سکنه مغزی در منطقه شمال-شمال شرقی و منطقه غربی کشور (شامل استان آذربایجان غربی) از سایر مناطق کشور بیشتر بود و در طیفی از ۴۵ تا ۶۳ درصد قرار داشت. تفاوت نتایج مطالعه حاضر با مطالعه Farzadfar و همکاران می تواند ناشی از دو علت باشد: اول این که گروه جمعیتی مورد مطالعه فرزاد فر و همکاران مسن تر از مطالعه حاضر (۶۴-۲۵ سال) بود بعلاوه در مطالعه Farzadfar و همکاران سهم منتسب جمعیتی برای توزیع پیوسته فشارخون سیستولی محاسبه شده است در حالیکه در مطالعه حاضر برای فشارخون بالا که ترکیبی از فشارخون سیستولی، دیاستولی و مصرف دارو برای فشارخون بالا می باشد، محاسبه شده است.

چند نکته در مورد مطالعه حاضر شایان ذکر است. اول این که مطالعه حاضر اولین مطالعه در استان آذربایجان غربی است که سهم منتسب جمعیتی و میرایی منتسب به فشارخون بالا را برای میرایی از بیماری های قلبی عروقی و میرایی از کلیه علل برآورد کرده است. دوم، در این مطالعه برای شیوع فشارخون بالا از داده های

نصف مقدار حاضر کاهش داده شود می‌تواند از ۵۰٪ مرگ و میر از علل فوق در جامعه جلوگیری کند.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه سهم متناسب جمعیتی و میرایی قابل انتساب به فشارخون بالا در رابطه با سه علت میرایی از بیماری‌های ایسکمیک قلبی، سکت‌های مغزی و میرایی از کلیه علل برآورد شد و نتایج نشان داد، که فشارخون بالا بیشترین سهم را در رخداد مرگ از سکت‌های مغزی و پس از آن در رخداد مرگ از بیماری‌های ایسکمیک قلبی داشت. از آنجا که نتایج چنین مطالعاتی می‌تواند اطلاعات روشن و دقیقی را در اختیار سیاست‌گذاران نظام سلامت استان آذربایجان غربی قرار دهد پیشنهاد می‌گردد که سهم متناسب جمعیتی و مرگ‌های متناسب برای سایر عوامل خطر بیماری‌های قلبی عروقی نیز برآورد شود. نتایج چنین مطالعاتی می‌تواند در برنامه ریزی و اولویت بندی راهکارهای کنترلی و اقدامات پیشگیرانه برای عوامل خطر قابل پیشگیری این بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرد و نقشی اساسی در کاهش بار مرگ و میر از بیماری‌های قلبی عروقی ایفا نماید.

قدردانی

از معاونت محترم بهداشتی استان آذربایجان غربی بخاطر در اختیار قرار دادن داده‌ها و همکاری‌های لازم صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله حاصل بخشی از یافته‌های پایان نامه کارشناسی ارشد به شماره ۱۳۹۵-۰۱-۵۱-۲۴۴۲ است که در دانشگاه علوم پزشکی ارومیه به تصویب رسیده است.

ملاحظات اخلاقی

ملاحظات اخلاقی شامل نمی‌شود.

منابع مالی

مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد آقای طاهر آهنگری به شماره ۱۳۹۵-۰۱-۵۱-۲۴۴۲ که در دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تصویب و تحت حمایت مالی دانشگاه انجام گرفته است.

منافع متقابل

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

مشارکت مولفان

ط، آ، س م و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید نمودند.

مطالعه Janghorbani و همکاران (۱۳) که یک مطالعه جامع در سطح کشور است، استفاده شد. مقایسه شیوع فشارخون بالا در این مطالعه برای گروه‌های سنی ۱۰ ساله در دامنه سنی ۶۴-۲۵ سال با نتایج دور پنجم مطالعه STEPS کشور برای استان در سال ۸۸ نشان داد که برآوردهای شیوع اختصاصی سنی در این دو مطالعه به هم خیلی نزدیک بودند و از آنجا که در مطالعه STEPS شیوع فشارخون بالا برای استان برای دامنه ۶۴-۱۵ سال گزارش شده بود که به دلیل پایین بودن شیوع در گروه سنی ۲۴-۱۵ سال شیوع فشارخون بالا در دامنه سنی مربوطه خیلی پایین تر از شیوع در دامنه ۶۴-۲۵ سال می‌شد، بنابراین در این مطالعه از نتایج مطالعه Janghorbani و همکاران استفاده گردید. یکی دیگر از نکات قوت این مطالعه این است که از برآوردهای اندازه اثر گزارش شده از یک مطالعه داخلی یعنی مطالعه همگروهی گلستان (۱۴) برای محاسبه سهم‌های متناسب جمعیتی استفاده شد که تنها مطالعه داخلی است که برآوردهای نسبت مخاطره را برای میرایی از علل مورد نظر ارائه کرده بود. در سایر مطالعات انجام گرفته در ایران برآوردهای اندازه اثر برای رخداد وقایع قلبی عروقی گزارش شده‌اند، که با توجه به رخداد بالای حوادث قلبی عروقی در مقایسه با میرایی از این بیماری‌ها، بزرگتر از برآوردهای اندازه اثر برای میرایی هستند. اما استفاده از این داده‌ها محدودیت‌هایی را برای این مطالعه به همراه داشت. افراد شرکت کننده در مطالعه همگروهی گلستان در دامنه سنی ۷۴-۴۰ سال قرار داشتند. از آنجا که در سنین پایین‌تر برآوردهای اندازه اثر برای عوامل خطر معمولاً قوی‌تر هستند (۱۰)، این احتمال وجود دارد که اندازه اثر فشارخون بالا برای میرایی از علل مورد نظر برای گروه سنی ۶۴-۲۵ سال بیشتر از خطر نسبی برای گروه سنی ۷۴-۴۰ باشد، که می‌تواند به کم برآوردی در نتایج این مطالعه منجر شده باشد. بعلاوه در مطالعه همگروهی گلستان اندازه اثر فشارخون بالا برای میرایی از علل مورد نظر به طور جداگانه برای زنان و مردان انجام نگرفته است. با این که زنان به طور کلی در این سنین میرایی کمتری را نسبت به مردان تجربه می‌کنند اما به علت بالا بودن شیوع فشارخون بالا در آنها ممکن است این عامل اثر قویتری روی میرایی از علل مورد نظر در زنان نسبت به مردان داشته باشد، که در این صورت باز هم احتمال دارد که برآوردهای سهم متناسب جمعیتی برای فشارخون بالا در رابطه با میرایی از علل مورد نظر در این مطالعه کم برآوردی داشته باشد. یعنی سهم واقعی میرایی متناسب به فشارخون بالا در زنان از مقادیر محاسبه شده در این مطالعه بیشتر باشد. هر دو نکته فوق در واقع روی اهمیت فشارخون بالا در رویداد میرایی از بیماری‌های قلبی عروقی، سکت مغزی و میرایی از همه علل بیشتر تاکید می‌کند و نشان می‌دهد که برنامه ریزی برای کاهش شیوع فشارخون بالایی می‌تواند تأثیرات جدی را روی کاهش میرایی از علل فوق داشته باشد و تنها اگر شیوع فشارخون بالا در مردان و زنان به

References

- Salomon J A, Vos T, Hogan D R, Gagnon M, Naghavi M, Mokdad A, et al. Common values in assessing health outcomes from disease and injury: disability weights measurement study for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet* 2013; **380**(9859): 2129-2143 doi: 10.1016/S0140-6736(12)61680-8.
- Lang R M, Badano L P, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2015; **28**(1): 1-39. e14. doi: 10.1016/j.echo.2014.10.003
- Mathers C D, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *Plos Med* 2006; **3**(11): e442. doi: 10.1371/journal.pmed.0030442
- Organization W H. Global Health Risks-Mortality and burden of disease attributable to selected major risks. *The Lancet* 2015.
- Azizi F. Preventing NCDs: Improving lifestyle an inevitable Necessity. *Journal of Research in Medical Sciences* 2003; **27**(4): 261-263.
- Naghavi M, Abolhassani F, Pourmalek F, Lakeh M M, Jafari N, Vaseghi S, et al. The burden of disease and injury in Iran 2003. *Population Health Metrics* 2009; **7**(1): 1. doi: 10.1186/1478-7954-7-9
- Organization W H. *Global status report on noncommunicable diseases* 2014: World Health Organization; 2014.
- Danaei G, Finucane M M, Lin J K, Singh G M, Paciorek C J, Cowan M J, et al. National, regional, and global trends in systolic blood pressure since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 786 country-years and 5· 4 million participants. *The Lancet* 2011; **377**(9765): 568-577. doi: 10.1016/S0140-6736(10)62036-3
- World Health O. Global health risks : mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva: World Health Organization; 2009.
- Danaei G, Ding E L, Mozaffarian D, Taylor B, Rehm J, Murray C J, et al. The preventable causes of death in the United States: comparative risk assessment of dietary, lifestyle, and metabolic risk factors. *PLoS Med* 2009; **6**(4): e1000058. doi: 10.1371/journal.pmed.1000058
- Farzadfar F, Danaei G, Namdaritabar H, Rajaratnam J K, Marcus J R, Khosravi A, et al. National and subnational mortality effects of metabolic risk factors and smoking in Iran: a comparative risk assessment. *Population Health Metrics* 2011; **9**(1): 1-11. doi: 10.1186/1478-7954-9-55
- Ezzati M, Lopez A D, Rodgers A, Murray C J. Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors: OMS; 2004.
- Janghorbani M, Amini M, Gouya M M, Delavari A, Alikhani S, Mahdavi A. Nationwide survey of prevalence and risk factors of prehypertension and hypertension in Iranian adults. *Journal of Hypertension* 2008; **26**(3): 419-426. doi: 10.1097/HJH.0b013e3282f2d34d
- Sepanlou S, Sharafkhan M, Poustchi H, Malekzadeh M, Etemadi A, Khademi H, et al. Hypertension and mortality in the Golestan Cohort Study: a prospective study of 50 000 adults in Iran. *J Human Hypertens* 2015; **57**. doi: 10.1038/jhh.2015.57
- Rockhill B, Newman B, Weinberg C. Use and misuse of population attributable fractions. *American Journal of Public Health* 1998; **88**(1): 15-19.
- He J, Gu D, Chen J, Wu X, Kelly T N, Huang J-f, et al. Premature deaths attributable to blood pressure in China: a prospective cohort study. *The Lancet* 2009; **374**(9703): 1765-1772. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61199-5
- Ikeda A, Iso H, Yamagishi K, Inoue M, Tsugane S. Blood pressure and the risk of stroke, cardiovascular disease, and all-cause mortality among Japanese: the JPHC Study. *American Journal of Hypertension* 2009; **22**(3): 273-280. doi: 10.1038/ajh.2008.356
- Martiniuk A L, Lee C M, Lawes C M, Ueshima H, Suh I, Lam T H, et al. Hypertension: its prevalence and population-attributable fraction for mortality from cardiovascular disease in the Asia- Pacific region. *Journal of Hypertension* 2007; **25**(1): 73-79. doi: 10.1097/HJH.0b013e328010775

Original Article

Comparison of effect of G-CSF with PEG G-CSF in the increase of neutrophil count and pain intensity after chemotherapy in patients with breast cancer

Ali Esfahani¹ , Maryam Abbasnejad^{2*} , Babak Nejati¹ , Zohreh Ghoreishi³, Mosleh Kadkhodamohammadi⁴ 

¹Hematology and Medical Oncology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

²Department of Internal Medicine, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

³Nutrition Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

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

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

Received: 7 January 2017 Accepted: 9 March 2017 First Published online: 17 January 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):14-20

Abstract

Background: Breast cancer, especially in women, is one of the most common cancers. Granulocyte colony stimulating factor (filgrastim), is used in the prophylaxis and treatment of neutropenia and infection in these patients. Pegylated form of this drug, pegfilgrastim, has entered the market in last decade. This study sought to examine the effects of filgrastim and pegfilgrastim in these patients.

Methods: In this semi experimental trial study, 100 patients with breast cancer in the third course of cyclophosphamide and epirubicin chemotherapy regimen were selected. Patients were divided into two groups with 50 patients equally with random allocation list. Before chemotherapy, complete blood count test was taken and drugs were injected subcutaneously 24 hours after chemotherapy. Complete blood count test was taken from all patients in the first, second and third weeks after chemotherapy and variation of white cells and neutrophils were noted. Bone pain severity after drug perception was scaled with pain assessment tool.

Results: By comparison of patients in two groups of filgrastim and pegfilgrastim there was no statistically significant difference in the white blood cells and neutrophil count in the time interval of first, second and third weeks after chemotherapy (p -value >0.05). Patients of two groups did not have significant difference in bone pain severity statistically.

Conclusion: Filgrastim and pegfilgrastim have the same effect upon increase of white blood cell and neutrophil count, treatment of neutropenia and bone pain after chemotherapy in breast cancer and have no priority to each other.

Keywords: Breast Cancer, Granulocyte Colony Stimulating Factor, Neutropenia, Chemotherapy.

How to cite this article: Esfahani A, Abbasnejad M, Nejati B, Ghoreishi Z, Kadkhodamohammadi M. [Comparison of effect of G-CSF with PEG G-CSF in the increase of neutrophil count and pain intensity after chemotherapy in patients with breast cancer]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March;40(6):14-20. Persian.

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر G-CSF با PEG G-CSF در افزایش تعداد نوتروفیل ها و شدت درد پس از شیمی درمانی در بیماران مبتلا به سرطان پستان

علی اصفهانی^۱ ID، مریم عباس نژاد^{۲*} ID، بابک نجاتی^۱ ID، زهره قریشی^۳، مصلح کدخداحمدی^۴ ID

^۱مرکز تحقیقات هماتولوژی و مدیکال انکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

^۲گروه بیماریهای داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

^۳مرکز تحقیقات تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

^۴گروه گوش حلق بینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

*نویسنده مسئول: ایمیل: mabbasnazhad@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۸ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۹ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ بهمن و اسفند: ۴۰(۶): ۱۴-۲۰

چکیده

زمینه: سرطان پستان یکی از شایع ترین سرطانها، به خصوص در زنان می باشد. فاکتور محرک کلونی گرانولوسیتها (فیلگراستیم)، در پیشگیری و درمان نوتروپنی و عفونت در این بیماران استفاده می شود. نوع پگیله شده این دارو، پگ فیلگراستیم، در دهه اخیر وارد بازار شده است. این مطالعه در نظر داشت تا اثرات فیلگراستیم و پگ فیلگراستیم را در این بیماران بررسی نماید.

مواد و روش ها: در این مطالعه کارآزمایی نیمه تجربی، ۱۰۰ بیمار با سرطان پستان در نوبت سوم رژیم شیمی درمانی سیکلوفسفامید و اپی رویسین انتخاب گردیدند. بیماران با جدول اعداد تصادفی، به دو گروه مساوی ۵۰ نفره تقسیم شدند. قبل از شیمی درمانی، آزمایش شمارش کامل سلولهای خونی، اخذ گردید و ۲۴ ساعت پس از شیمی درمانی، داروها زیرجلدی تزریق گردید. آزمایش شمارش کامل سلولهای خونی از تمام بیماران، در هفته یک، دو و سه پس از شیمی درمانی، اخذ گردید و تغییرات سلولهای سفید و نوتروفیل ها ثبت گردید. شدت درد استخوانی پس از دریافت دارو نیز با استفاده از ابزار مقیاس شدت درد سنجیده شد.

یافته ها: در مقایسه بیماران در دو گروه فیلگراستیم و پگ فیلگراستیم، تفاوت معنی دار آماری در شمارش سلولهای سفید خون و نوتروفیلها در بازه های زمانی هفته اول، دوم و سوم پس از شیمی درمانی تفاوت معنی دار آماری وجود نداشت ($P>0/05$). بیماران دو گروه در شدت درد استخوانی تفاوت معنی دار آماری نداشتند.

نتیجه گیری: فیلگراستیم و پگ فیلگراستیم اثر یکسانی روی افزایش تعداد سلولهای سفید خون و نوتروفیل ها، درمان نوتروپنی و درد استخوانی پس از شیمی درمانی در سرطان پستان، داشته و نسبت به هم ارجحیتی ندارند.

کلید واژه ها: سرطان پستان، فاکتور محرک کلونی گرانولوسیت ها، نوتروپنی، شیمی درمانی.

نحوه استناد به این مقاله: اصفهانی ع، عباس نژاد م، نجاتی ب، قریشی ز، کدخداحمدی م. مقایسه اثر G-CSF با PEG G-CSF در افزایش تعداد نوتروفیل ها و شدت درد پس از شیمی درمانی در بیماران مبتلا به سرطان پستان. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۱۴-۲۰

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.

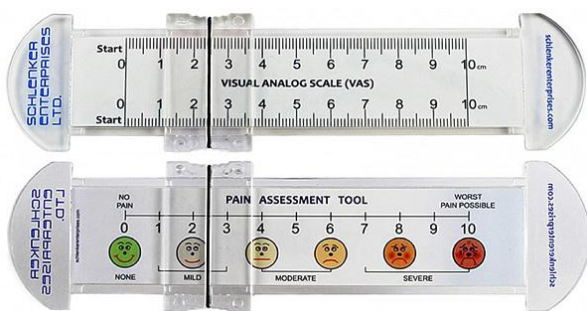
مقدمه

سرطان پستان حاصل تکثیر بدخیم سلول‌های اپیتلیال پوشاننده مجاری و لبول‌های پستان است. بدخیمی‌های اپیتلیالی شایع‌ترین نوع سرطان پستان در خانمها هستند و یک سوم موارد سرطان در خانمها می‌باشند (۱). بیشتر موارد سرطان پستان، از نوع آدنوکارسینوم داکتال انیلتره هستند و مقدار کمی نیز از نوع آدنوکارسینوم لوبولار هستند (۲). (Granulocyte Colony G-CSF Stimulating Factor) یک گلیکوپروتئین است که باعث تحریک مغز استخوان می‌شود که باعث تولید گرانولوسیت‌ها شده و آنها را وارد جریان خون می‌کند (۳). G-CSF یک سایتوکاین یا هورمون است که به وسیله بافتهای مختلف و توسط اندوتلیوم، ماکروفاژها و تعدادی سلول‌های ایمنی دیگر تولید می‌شود. آنالوگ‌های دارویی آن شامل فیلگراستیم و لنوگراستیم است و باعث افزایش بقا، تکثیر، تمایز و فعالیت پیش سازهای نوتروفیل‌ها شده و آنها را بالغ می‌کند (۴). داروهای شیمی درمانی می‌توانند باعث سرکوب مغز استخوان شده و سلولهای سفید خون کم شده و بیماران مستعد ابتلا به انواع عفونتها می‌شوند (۵). این دارو به صورت زیر جلدی یا داخل وریدی تزریق می‌شود. نوع پگیله شده آن به نام پگ فیلگراستیم نیمه عمر طولانی داشته و در نتیجه میزان دفعات تزریق روزانه را کاهش می‌دهد (۶). با توجه به اینکه نوع پگیله شده این دارو، نسبت به نوع استاندارد آن داروی جدیدی بوده و مطالعات کافی در مورد میزان اثربخشی آن در سرطان پستان، هنوز صورت نگرفته است و فقط یک نوبت پس از اتمام دوره شیمی درمانی تزریق می‌شود، استفاده از آن برای بیماران به مراتب راحت تر از مصرف روزانه فیلگراستیم می‌باشد. لذا ما در این مطالعه، این دو دارو را از نظر میزان اثربخشی در کاهش نوتروپنی بعد از شیمی‌درمانی و عوارض آنها مقایسه کردیم.

روش کار

در این مطالعه مداخله‌ای نیمه تجربی (با توجه به اینکه این مطالعه کورسازی نشده است)، تعداد ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان (زن و مرد) که تحت شیمی‌درمانی نوبت سوم با رژیم اپی رویسین و سیکلوفسفاماید بودند و به درمانگاه‌های فوق تخصصی خون و سرطان دانشگاه علوم پزشکی تبریز مراجعه کرده بودند و شرایط ورود به مطالعه را داشتند، انتخاب و با استفاده از جدول اعداد تصادفی به صورت یک در میان، به دو گروه مساوی ۵۰ نفری تقسیم شدند. حجم نمونه با توجه به میانگین و انحراف معیار شاخص‌های مورد آزمایش در مطالعات پیشین، با سطح اطمینان ۹۰٪ و آلفای ۰/۰۵ و اندازه اثر ۰/۶ با استفاده از نرم افزار جی-پاور، حجم نمونه در هر گروه ۴۹ نفر برآورد گردید که ما تعداد ۵۰ نفر در هر گروه را انتخاب کردیم. مدت زمان انجام مطالعه ۱۲ ماه، که از اول آبان ماه سال ۱۳۹۴ لغایت اول آبان ماه سال ۱۳۹۵

بوده است. در ابتدای ورود به مطالعه یک آزمایش شمارش سلولی از بیماران اخذ گردید. بیماران بعد از ۲۴ ساعت از اتمام شیمی درمانی دوره سوم، تحت درمان با داروی (G-CSF) فیلگراستیم (۳۰۰ میکروگرم به تعداد ۲ الی ۷ عدد بر اساس شرایط بالینی و جواب آزمایش شمارش کامل سلولهای خونی قبلی و بیماریهای همراه و سن، وضعیت عملکردی و قضاوت بالینی پزشک متغیر بود) که روزانه یک عدد تزریق می‌شد یا (PEG G-CSF) پگ فیلگراستیم (۶ میلی گرم) تک دوز، که هر دو دارو زیرجلدی می‌باشند قرار گرفتند. به یک گروه فیلگراستیم و به گروه دیگر پگ فیلگراستیم تجویز شد. داروی فیلگراستیم ساخت شرکت پوش دارو و پگ فیلگراستیم ساخت شرکت سیناژن ایران به نام پگازن بودند. به دلیل اینکه هم پزشک و هم خود بیمار از نوع داروی تجویز شده اطلاع داشتند، این مطالعه به صورت نیمه تجربی انجام گرفته و کورسازی نشده است. سپس بیماران از نظر میزان تغییرات در شمارش نوتروفیل‌ها و سلولهای سفید خون و میزان استخوانی که ناشی از تزریق داروهای محرک سلولهای خونساز و گسترش مغز استخوان و کشش پرده استخوانی می‌باشد، بعد از اتمام شیمی درمانی، مقایسه شدند. آزمایش شمارش کامل سلولهای خونی، که برای بررسی اثرات شیمی درمانی و داروهای زیرجلدی در مغز استخوان است در هفته اول، دوم و سوم بعد از شیمی درمانی اخذ گردید. همه آزمایشات در یک آزمایشگاه واحد انجام گرفت. افزایش شمار سلولهای سفید و نوتروفیل‌های خون بعد از شیمی درمانی در بیماران مبتلا به سرطان پستان در این مطالعه به عنوان متغیر اصلی محسوب شد. ارزیابی میزان درد استخوانی بیماران نیز با استفاده از ابزار مقیاس شدت درد که شکل آن در ادامه آورده شده است، سنجیده شد که از نمره صفر تا ۱۰ تقسیم‌بندی شده است. نمره ۱ تا ۳ خفیف، نمره ۴ تا ۶ متوسط و نمره ۷ تا ۱۰ شدید تقسیم‌بندی می‌شود. برگه رضایت نامه آگاهانه، برای هر بیمار در ابتدای ورود به مطالعه تکمیل گردید. این مطالعه مورخه ۹۴/۳/۲۴ تحت نامه شماره ۹۴/۱-۹/۵ در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به تصویب رسیده و مورخه ۹۴/۹/۳۰ طی نامه شماره ۵/۴/۱۰۷۴۰ با کد اخلاقی TBZMED.REC.1394.845 به تصویب کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی تبریز رسیده و در سایت کار آزمایشی بالینی با کد IRCT201604248397N4 ثبت گردیده است. معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از: فقط کانسر پستان داشته باشد، سن بالای ۱۵ سال و زیر ۷۵ سال، بدون سابقه قبلی ابتلا به سرطان، دارا بودن وضعیت بالینی مناسب برای تحمل رژیم شیمی‌درمانی، عدم دریافت شیمی‌درمانی قبلی، عدم وجود مشکل کلیوی یا کبدی. معیارهای خروج از مطالعه شامل موارد زیر بودند دارا بودن سایر بیماریهای خونی یا سابقه آنها، سابقه مصرف داروهای شیمی-



و پگ فیلگراستیم در دو گروه بیماران تفاوت معنی دار آماری یافت نشد. بررسی شدت درد استخوانی به صورت رتبه ای بوده و پس از طبقه بندی بیماران در هر یک از گروه های با شدت درد خفیف، متوسط و شدید از آنها میانگین گرفته شده و سپس دو گروه با هم مقایسه گردیده اند که در جدول شماره ۳ خلاصه شده اند. برای آنالیز شدت درد استخوانی در دو گروه، به دلیل نرمال نبودن توزیع داده ها، از آزمون U -مان ویت نی استفاده گردیده است که با $p\text{-value}=0.311$ تفاوت معنی دار آماری یافت نشد.

جدول شماره ۱: مقایسه تعداد سلول های سفید خون قبل از دریافت شیمی درمانی، هفته اول، دوم و سوم پس از شیمی درمانی و تزریق فیلگراستیم و پگ فیلگراستیم در دو گروه بیماران

P	پگ فیلگراستیم	فیلگراستیم	تعداد سلول های سفید خون
۰/۲۹۱	۷۲۱۴/۹۱۱±۱۰۷۶/۱۶۶	۷۷۷۵±۱۹۷۰/۰۶	سلول های سفید اولیه
۰/۸۲۲	۵۰۱۵/۱۶۲±۱۰۹۹/۱۸۸	۵۳۸۶/۸±۶۱۰۴۳۶۶	سلول های سفید هفته اول
۰/۵۲۸	۹۲۰۹/۲۴۱±۱۹۲۹/۱۳۹	۹۱۹۱/۴±۱۰۸۶۷/۰۲۳	سلول های سفید هفته دوم
۰/۴۰۸	۶۷۰۹/۸۸۶±۹۱۴/۶۲۴۴	۶۹۹۴±۵۹۰۴/۱۴۲	سلول های سفید هفته سوم

داده ها به صورت انحراف معیار $\pm$ میانگین نشان داده شده اند...

جدول شماره ۲: مقایسه تعداد نوتروفیل های خون قبل از دریافت شیمی درمانی، هفته اول، دوم و سوم پس از شیمی درمانی و تزریق فیلگراستیم و پگ فیلگراستیم در دو گروه بیماران

P	پگ فیلگراستیم	فیلگراستیم	تعداد نوتروفیل های خون
۰/۳۲۲	۴۸۰۶/۳۳۸±۸۰۰/۲۴۷	۴۷۶۶/۷۶±۴۵۹۲/۳۴۷	نوتروفیل های اولیه
۰/۵۳۴	۳۰۹۶/۹۳۲±۶۱۰/۵۸۸	۲۹۹۹/۶۱۸±۳۴۳۷/۶۳۷	نوتروفیل های هفته اول
۰/۵۷۸	۶۸۶۶/۳۸۲±۱۸۹۴/۹۶۸	۶۸۱۷/۵۸±۱۰۶۳۳/۳۲۲	نوتروفیل های هفته دوم
۰/۸۰۴	۵۱۱۹/۹۰۸±۱۵۸۵/۹۴۹	۶۱۶۶/۶±۱۰۲۶۲/۰۸	نوتروفیل های هفته سوم

داده ها به صورت انحراف معیار $\pm$ میانگین نشان داده شده اند...

جدول شماره ۳: شدت درد استخوانی ناشی از تجویز فیلگراستیم و پگ فیلگراستیم

P	میانگین شدت درد (درصد)	دارو
۰/۳۱۱	۴۷/۷۱	فیلگراستیم
	۵۳/۲۹	پگ فیلگراستیم

بحث

در این مطالعه دو داروی G-CSF و نوع پگیله آن در دو گروه بیماران مقایسه گردید. تعداد بیماران ۱۰۰ مورد بود و با جدول اعداد تصادفی به دو گروه ۵۰ نفری تقسیم شده بودند. به دلیل اثر اختلالات کبدی و کلیوی در کلیانس داروهای شیمی درمانی (۷)، بیماران مشکل کبدی یا کلیوی که اختلالی در پاکسازی این داروها ایجاد کند و در نتایج مطالعه اثرگذار باشد نداشتند. برای جلوگیری

درمانی، عدم تمایل بیمار به شروع یا ادامه درمان، عدم امکان ادامه درمان به دلیل وضعیت بالینی بیمار. در این مطالعه پیامد اولیه شامل تغییرات شمارش سلول های سفید خون و نوتروفیلها در اثر تجویز داروی زیرجلدی بود. پیامدهای ثانویه شامل میزان بستری به دلیل تب های همراه با نوتروپنی، ابتلا به عفونت های ناشی از کاهش تعداد نوتروفیل ها و همچنین شدت درد استخوانی بیماران به دلیل تحریک مغز استخوان بود. در این مطالعه برای گزارش متغیرهای رتبه ای و کیفی از فراوانی و درصد و متغیرهای کمی میانگین و انحراف معیار استفاده شد. برای مقایسه تعداد سلول های سفید خون و نوتروفیلها، در بازه های زمانی متفاوت از آزمون آماری مدل خطی تعمیم یافته استفاده شد. با توجه به اینکه از آمار توصیفی از قبیل اطلاعات به دست آمده به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار برای متغیرهای کمی و فراوانی برای متغیرهای کیفی بیان شده است. برنامه آماری به کار رفته SPSS نسخه ۱۸ است. سطح معنی دار آماری در این مطالعه برای میزان سلول های سفید خون، نوتروفیل ها و شدت درد استخوانی کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

یافته ها

میانگین سنی جامعه مورد مطالعه $47/06 \pm 9/38$ سال بود. میانگین سنی بیماران گروه فیلگراستیم $48/29 \pm 8/61$ و میانگین سنی بیماران گروه پگ فیلگراستیم $45/86 \pm 10/02$ بود. بر اساس آزمون آماری تی، همسان سازی سنی انجام شده است ($p=0/202$). بر اساس آزمون آماری کولموگراف اسمیرنوف، توزیع سنی دو گروه نرمال بودند. از ۱۰۰ بیمار مورد بررسی ۹۷٪ زن و ۳٪ مرد بودند. از ۵۰ مورد بیمار دریافت کننده فیلگراستیم، ۲٪ مرد و ۹۸٪ زن و در گروه دریافت کننده پگ فیلگراستیم، ۴٪ مرد و ۹۶٪ زن بودند. تعداد سلول های سفید خون بیماران در دو گروه در آزمایش قبل از شروع شیمی درمانی، هفته اول و دوم و سوم پس از شیمی درمانی و تزریق داروهای زیرجلدی با استفاده از آزمون آماری مدل خطی تعمیم یافته به صورت میانگین و انحراف معیار در جدول شماره ۱ خلاصه شده اند. طبق آنالیزهای آماری در جدول ۱، در بررسی تعداد سلول های سفید خون قبل از درمان، هفته اول، دوم و سوم پس از دریافت شیمی درمانی و تزریق فیلگراستیم و پگ فیلگراستیم در دو گروه بیماران تفاوت معنی دار آماری یافت نشد. تعداد نوتروفیل های خون بیماران در دو گروه در آزمایش قبل از شروع شیمی درمانی، هفته اول و دوم و سوم پس از شیمی درمانی و تزریق داروهای زیرجلدی با استفاده از آزمون آماری مدل خطی تعمیم یافته به صورت میانگین و انحراف معیار در جدول شماره ۲ خلاصه شده اند. طبق آنالیزهای آماری در جدول ۲، در بررسی تعداد نوتروفیل های خون قبل از درمان، هفته اول، دوم و سوم پس از دریافت شیمی درمانی و تزریق فیلگراستیم

از خطاهای آزمایشگاهی، آزمایشات در یک آزمایشگاه واحد انجام گرفت. همانند مطالعات انجام شده توسط Volpi و همکاران در سال ۲۰۰۱، تعداد سلولهای سفید خون و نوتروفیل ها قبل از تزریق این داروها و سپس هفته های اول، دوم و سوم پس از اتمام شیمی درمانی مقایسه گردید (۸). همچنین درد ناشی از تزریق این داروها که باعث گسترش سلولهای مغز استخوان و کشش پریوست می شوند (۱۰ و ۱۱) با استفاده از ابزار سنجش شدت درد بررسی و سپس مقایسه گردید. بر اساس یافته های این مطالعه، ابتدا بیماران قبل از شروع مطالعه نوتروپنی نداشتند و تعداد سلولهای سفید خون آنان بالای ۴۰۰۰ عدد در میکرولیتر و نوتروفیل بالای ۱۵۰۰ عدد در میکرولیتر داشتند. در هفته اول پس از شیمی درمانی دچار کاهش تعداد سلولهای سفید و نوتروفیل ها شدند. به طوری که تعداد سلولهای سفید خون زیر ۴۰۰۰ و تعداد نوتروفیل ها زیر ۱۵۰۰ بود. همانند مطالعات انجام شده در این زمینه (۱۲) در هفته دوم افزایش سلولهای سفید و نوتروفیل های خون مشاهده گردید و در هفته سوم مجدداً تعداد سلولها کاهش پیدا کرده و به حد نرمال و تعداد قبل از شروع شیمی درمانی رسید. در مطالعه فعلی مقدار افزایش سلولها در هفته دوم پس از شیمی درمانی در گروه دریافت کننده داروی پگیله بیشتر بود، به طوری که بیماران دچار یک جهش در افزایش تعداد سلولهای سفیدخون و نوتروفیل ها شدند، ولی در مطالعات مشابه صورت گرفته، این جهش افزایشی در گروه فیلگراستیم بیشتر بوده است و گروهی که پگ فیلگراستیم دریافت کرده بودند، به علت نیمه عمر طولانی آن و پاکسازی کندتر آن، کمتر این جهش را تجربه کرده بودند (۱۲). در مطالعه ای که توسط Spunt و همکاران در سال ۲۰۱۲ صورت گرفته این افزایش جهشی نوتروفیل ها، بر خلاف مطالعه حاضر، در گروه پگ فیلگراستیم کمتر بوده است (۱۳). علت این اختلاف یافته ها، شاید مربوط به شرکت تهیه کننده این داروها باشد. در مطالعه فعلی فقط داروی پگازن ساخت شرکت سیناژن ایران، تجویز شده بود، و بهتر است که محصولات شرکت های مختلف با یکدیگر مقایسه شود. اما در مورد نتیجه نهایی و میزان نوتروفیل ها، کوتاه کردن فاز نوتروپنی و متعاقب آن، کاهش میزان عفونت و بستری های بیمارستانی، بر اساس آنالیزهای آماری صورت گرفته، هیچ تفاوت معنی دار نداشته و دو دارو یکسان بودند. در مطالعه ای که در مورد فراورده های پگیله انجام شده بود، اعلام شده بود که زمان پاکسازی نامشخص و غیر قابل پیشگویی، برای فراورده های پگیله شده، ممکن است باعث تجمع ترکیبات با وزن مولکولی بالا در کبد شده و باعث تشکیل اجسام انکلوژیونی با مسمومیت ناشناخته شوند و این یکی از محدودیت های استفاده از انواع پگیله شده می باشد (۱۴). ولی در مطالعات دیگر این یافته ها تایید نگردید. در اکثر دستورالعمل ها بین فیلگراستیم و پگ فیلگراستیم تفاوتی ذکر نشده است (۱۵). بر اساس مطالعات قبلی انجام شده در این زمینه تعداد

داروی G-CSF تزریقی به بیماران از ۲ تا ۷ عدد متغیر بود (۱۵). این تعداد متفاوت بر اساس وضعیت بالینی بیمار، کوموریدیتی های همراه، آزمایشات شمارش سلولی دوره های قبل و شدت نوتروپنی و میزان عوارض ناشی از آن مثل عفونت یا تب منجر به بستری یا مصرف آنتی بیوتیک و نهایتاً قضاوت بالینی خود پزشک، با در نظر داشتن موارد فوق انتخاب شده بودند. در مطالعه صورت گرفته، بیماری که دو عدد آمپول دریافت کرده بود، فاز نوتروپنی شبیه دیگر بیماران داشته و در آزمایش شمارش سلولی هفته دوم جهش افزایش کمتری، در تعداد سلولهای سفید خون داشتند و در هفته سوم نیز آزمایش نرمال بوده و به حد پایه رسیده بود. وقتی این بیماران را، با بیمارانی که ۷ عدد آمپول فیلگراستیم دریافت کرده بودند، مقایسه کردیم تفاوت معنی داری یافت نشد. به نظر می رسد که بهتر است هم برای مقرون به صرفه بودن و هم نداشتن تفاوت معنی دار، از تجویز تعداد اضافی G-CSF به بیماران، اجتناب نمود و در تعیین تعداد مورد نظر و لازم به هر بیمار، دقت نمود. در دیگر مطالعات کارآزمایی بالینی نیز، اینگونه بوده و موافق یافته های بیماران ما بودند و تعداد سلولها و نوتروفیل ها در تعداد بالای G-CSF فقط کمی بیشتر از تعداد کم آنها بود. ولی در مطالعه انجام شده لیو و همکاران سال ۲۰۰۹، به طور متوسط ۹-۱۴ تزریق روزانه فیلگراستیم در هر دوره لازم بوده، ولی پگ فیلگراستیم یک نوبت تزریق می گردد و پگ فیلگراستیم در کاهش تب و نوتروپنی به طور قابل توجهی موثرتر از فیلگراستیم بود (۱۶). در یک مطالعه که توسط لیو و همکارانش در سال ۲۰۰۹ در بین زنان ۴۵ سال با مرحله ۲ کانسر پستان که ۴ نوبت شیمی درمانی دریافت می کردند انجام شد، خطر نوتروپنی ۵/۵٪ در گروه دریافت کننده پگ فیلگراستیم کمتر از فیلگراستیم ۱۱ روزه و ۱۰/۵٪ کمتر از گروه فیلگراستیم ۶ روزه بوده و هزینه آن نیز کمتر بود (۱۶) که این یافته بر خلاف یافته های مطالعه حاضر بود. در سایر مطالعات صورت گرفته در مقایسه اثرات دو دارو میزان اثربخشی آنها یکسان بوده است (۱۷ و ۱۸). در مطالعه ما، میزان کاهش تعداد نوتروفیل ها و سلولهای سفید خون، سپس افزایش تعداد نوتروفیل ها نیز در دو گروه G-CSF و نوع پگیله آن معنی دار نبود. در طول مدت یک هفته پس از تزریق داروها بیماران از نظر شدت دردهای استخوانی پایش شدند. شدت درد بیماران به چهار دسته تقسیم شد: بدون درد، درد خفیف، درد متوسط و شدید. در طول مطالعه شدت دردهای ناشی از پگ فیلگراستیم مختصری بیشتر از گروه G-CSF بود ولی تفاوت معنی دار آماری پیدا نشد. یافته های مطالعات صورت گرفته در زمینه میزان نوتروپنی و شدت دردهای استخوانی ناهمگون و ضد و نقیض می باشند. در یک مطالعه که توسط Ip و همکاران در سال ۲۰۰۸ روی شدت درد استخوانی انجام شده بود، در طول مطالعه میزان درد در گروه پگ فیلگراستیم کمتر بوده و از نظر آماری نهایتاً نتیجه یکسان بوده است (۱۹). در حالیکه در

تجویز هر کدام از آنها پیشنهاد می شود. این دو دارو به یک میزان شدت درد استخوانی داشته و از این نظر نیز قابل قیاس بوده و تجویز هر کدام از آنها می تواند صورت بگیرد و ارجحیتی نسبت به هم ندارند.

قدردانی

این تحقیق در دانشگاه علوم پزشکی تبریز در قالب پایان نامه با شماره ۹۴/۱-۹/۵ انجام شده است. از بیمارستان شهید قاضی طباطبایی و کلینیکهای فوق تخصصی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و اساتید گرانقدر گروه خون و سرطان شناسی به دلیل معرفی بیماران و پیگیری ایشان صمیمانه قدردانی می گردد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته پزشکی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تبریز استان آذربایجان شرقی به شماره مرجع ۵/۴/۱۰۷۴۰ به تایید رسیده است.

منافع متقابل

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

مشارکت مولفان

ع.ا.م.ع و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. ع.ا. همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را مطالعه و تایید نموده است.

References

- Marc E (2015). Lippman. Breast Cancer. In: *Harrison: Harrison's principles of internal medicine*, vol.1, 18e. McGraw-Hill Company, United States of America, 523.
- Robert F (2010). Todd. Solid Tumors. In: Thomas E: *Cecil essentials of medicine*. China, 609.
- Aarts M J, Peters F P, Mandigers C M, Dercksen M W, Stouthard J M, Nortier H J, et al. Primary granulocyte colony-stimulating factor prophylaxis during the first two cycles only or throughout all chemotherapy cycles in patients with breast cancer at risk for febrile neutropenia. *J Clin Oncol* 2013; **31**(34): 4290-4296. doi: 10.1200/JCO.2012.44.6229.
- Renner P, Milazzo S, Liu J P, Zwahlen M, Birkmann J, Horneber M. Primary prophylactic colony-stimulating factors for the prevention of chemotherapy-induced febrile neutropenia in breast cancer patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; **10**. doi: 10.1002/14651858. CD007913.pub2.
- Jurczak W, Kalinka-Warzocha E, Chmielowska E, Duchnowska R, Wojciechowska-Lampka E, Wieruszewska K. Multicentre, Prospective Observational Study of Pegfilgrastim Primary Prophylaxis in Patients at High Risk of Febrile Neutropenia in Poland: PROFIL Study. *Contemp Oncol (Pozn)* 2015; **19**(3): 214-219. doi: 10.5114/wo.2015.52657.
- Fiegl M, Steger G G, Studnicka M, Eisterer W, Jaeger C, Willenbacher W. Pegfilgrastim prophylaxis in patients at different levels of risk for chemotherapy-associated febrile neutropenia: an observational study. *Curr Med Res Opin* 2013; **29**(5): 505-515. doi: 10.1186/1471-2407-13-11
- Lyman G H, Dale D C, Culakova E, Poniewierski M S, Wolff D A, Kuderer N M, et al. The impact of the granulocyte colony-stimulating factor on chemotherapy dose intensity and cancer survival: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann*

مطالعه حاضر در طول بررسی بیماران این نتیجه عکس مطالعه مذکور بود. در مطالعه فعلی، هیچ کدام از بیماران به دلیل تب و نوتروپنی بستری بیمارستانی نداشتند. ۳ نفر در گروه دریافت کننده G-CSF و ۲ نفر در گروه پگیله دارو دچار تب و علائم عفونت ریه شدند. دلیل این یافته می تواند مربوط به سن نسبتاً کم بیماران و عدم وجود بیماری های همراه و وضعیت عملکردی مناسب بیماران باشد. مطالعه فعلی از جهت اینکه میزان نوتروپنی و شدت درد استخوانی را در دو گروه پگ فیلگراستیم و فیلگراستیم، در بیماران مبتلا به سرطان پستان می سنجد و به صورت پیگیری منظم و رو در رو و تماس های تلفنی می باشد و به یافته های قابل توجه دست یافته حائز اهمیت می باشد. با توجه به اینکه نوع پگیله GCSF به نام داروی پگاژن در ایران، داروی نسبتاً جدیدی بوده و به صورت یک نوبت، تزریق می شود و هزینه کمتری داشته مطالعه و مقایسه آن با فیلگراستیم حائز اهمیت است. در این مطالعه، برای قابل قیاس بودن و جلوگیری از عوامل مخدوش کننده، کاملاً بیماران از نظر نوع سرطان و بیماری های همراه و وضعیت عملکردی، کارکرد کلیه و کبد و اینکه همه بیماران در یک نوبت شیمی درمانی خاص با رژیم یکسان بودند، وارد مطالعه شدند. بدین صورت، احتمال تاثیر این عوامل مخدوش کننده بر نتایج نهایی از بین رفته است و از این جهت نیز، مطالعه فعلی حائز اهمیت بوده و منحصر به فرد در بین مطالعات انجام شده تاکنون می باشد.

نتیجه گیری

داروی فیلگراستیم و پگ فیلگراستیم از نظر افزایش تعداد سلولهای سفید خون و نوتروفیل ها و درمان فاز کاهش نوتروفیلها و خطر عفونت اثر یکسانی داشته و بر اساس صلاحدید پزشک

- Oncol* 2013; **24**(10): 2475-2484. doi: 10.1200/JCO.2009.24.7643.
8. Volpi I, Perruccio K, Tosti A, Capanni M, Ruggeri L, Posati S, et al. Post grafting administration of granulocyte colony-stimulating factor impairs functional immune recovery in recipients of human leukocyte antigen haplotype mismatched hematopoietic transplants. *Blood* 2001; **97**: 2514-2521. doi: 10.1182/blood.V97.8.2514.
9. Holmes F A, Jones S, O'Shaughnessy J, Vukelja S, George T, Savin M, et al. Comparable efficacy and safety profiles of once-per-cycle pegfilgrastim and daily injection filgrastim in chemotherapy induced neutropenia: a multicenter dose-finding study in women with breast cancer. *Ann Oncol* 2002; **13**: 903-909. doi: 10.1093/annonc/mdf130.
10. Kohmei K, Yasuhiko M, Tohru M, Ryutaro S, Noriko U, Akio U, et al. A randomized, double-blind trial of pegfilgrastim versus filgrastim for the management of neutropenia during CHASE(R) chemotherapy for malignant lymphoma: *British Journal of Hematology* 2016; **174**: 563-570. doi: 10.1111/bjh.14088.
11. Laetitia G, Mark L, Ahmad A, André B, Greet B, Veronique C, et al. The use of chemotherapy regimens carrying a moderate or high risk of febrile neutropenia and the corresponding management of febrile neutropenia: an expert survey in breast cancer and non-Hodgkin's lymphoma. *BMC Cancer* 2010; **10**(642): 1471. doi: 10.1186/1471-2407-10-642.
12. Pinto L, Liu Z, Doan Q, Bernal M, Dubois R, Lyman G. Comparison of pegfilgrastim with filgrastim on febrile neutropenia, grade IV neutropenia and bone pain: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Curr Med Res Opin* 2007; **23**: 2283-2295. doi: 10.1185/030079907X219599
13. Spunt S L, Irving H, Frost J, Sender L, Guo M, Yang B-B, et al. Phase II, randomized, open-label study of peg filgrastim-supported VDC/IE chemotherapy in pediatric sarcoma patients. *Journal of Clinical Oncology* 2012; **28**(8): 1329-1336. doi: 10.1200/JCO.2009.24.8872.
14. Lodato F, Azzaroli F, Tamè M R, Di Girolamo M, Buonfiglioli F, Mazzella N, et al. G-CSF in Peg-IFN induced neutropenia in liver transplanted patients with HCV recurrence. *World journal of gastroenterology: WJG* 2009; **15**(43): 5449. doi: 10.3748/wjg.15.5449.
15. Aapro M, Crawford J, Kamioner D. Prophylaxis of chemotherapy-induced febrile neutropenia with granulocyte colony-stimulating factors: where are we now? *Support Care Cancer* 2010; **18**(5): 529-541. doi: 10.1007/s00520-010-0816-y.
16. Liu Z, Doan Q V, Malin J, Leonar R. The economic value of primary prophylaxis using pegfilgrastim compared with filgrastim in patients with breast cancer in the UK. *Applied health economics and health policy* 2009; **7**(3): 193-205. doi: 10.2165/11314740.
17. Miyazaki Y, Kubo K, Murayama T, Usui N, Urabe A, Tamura K, et al. A multicenter, double-blind, randomized Phase III study comparing KRN125 with filgrastim in lymphoma. *The Japanese Journal of Clinical Hematology* 2013; **7**: 54-64. doi: 45.3331/21.484974.
18. Weycker DMJ, Barron R, Edelsberg J, Kartashov A, Oster G. Comparative effectiveness of filgrastim, pegfilgrastim, and sargramostim as prophylaxis against hospitalization for neutropenic complications in patients with cancer receiving chemotherapy. *Am J Clin Oncol* 2011. doi: 10.1097/COC.0b013e31820dc075.
19. Ip E J, Lee-Ma A, Troxell L S, Chan J. Low-dose filgrastim in patients with breast cancer treated with docetaxel, doxorubicin, and cyclophosphamide. *Am J Health Syst Pharm* 2008; **65**: 1552-1555. doi: 10.2146/ajhp070489

Original Article

Detection of intron 22 inversion type I and II of factor VIII gene in female carriers of hemophilia a using Inverse shifting PCR (IS-PCR) method

Howra Bahrulolum¹ , Mehrdad Hashemi^{1*} , Alimuhammad Malekasgar²

¹Department of Genetics, School of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

²Department of Biochemistry and Genetics, School of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

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

Received: 21 January 2017 Accepted: 12 February 2017 First Published online: 17 January 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):21-27

Abstract

Background: Hemophilia type A is the most common X-linked recessive bleeding disorder, which 45-50% of the cases are caused by intron 22 inversion of factor 8 gene. Carrier detection for prenatal diagnosis in affected families can be effective in order to reduce the spread of disease. Since the linkage analysis for detecting carriers is only possible in families with a family history of hemophilia A, therefore IS-PCR method was chosen as a convenient and reliable method for carrier detection of intron 22 inversion mutation even in sporadic cases of hemophilia A.

Methods: This study was performed on families of hemophilia A patients with intron 22 inversion. After extracting DNA from peripheral blood leukocytes, IS-PCR technique was used to identify intron 22 inversion mutation types 1 and 2.

Results: Among the 9 cases that were analyzed for carrier status by IS-PCR, the results showed that 22/2% were without abnormal allele and 77/8% were carriers of intron 22 inversion mutation.

Conclusion: Using Inverse Shifting PCR is a precise, rapid and reliable method for assessing rearrangements related to intron 22 inversion mutation type 1 and 2 for detecting hemophilia A carriers.

Keywords: Heterozygote Detection, Hemophilia A, Chromosome Inversion, PCR.

How to cite this article: Bahrulolum H, Hashemi M, Malek asgar A M. [Detection of intron 22 inversion type I and II of factor VIII gene in female carriers of hemophilia a using Inverse shifting PCR (IS-PCR) method]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March;40(6):21-27. Persian.

مقاله پژوهشی

شناسایی جهش وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ ژن فاکتور ۸ در زنان ناقل هموفیلی A به روش IS-PCR) Inverse Shifting-PCR PCR)

حورا بحر العلوم^۱، مهرداد هاشمی^{۱*}، علی محمد ملک عسگر^۲

^۱گروه ژنتیک، دانشکده علوم و فن آوری نوین، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
^۲گروه بیوشیمی و ژنتیک، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.
^{*}نویسنده مسئول؛ ایمیل: drmehashemi@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۴ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ بهمن و اسفند؛ ۴۰(۶): ۲۱-۲۷

چکیده

زمینه: بیماری هموفیلی A شایع‌ترین بیماری خونریزی دهنده ی وابسته به X مغلوب است که ۴۵-۵۰٪ از موارد به علت وارونگی در اینترون ۲۲ ژن فاکتور ۸ ایجاد می شود. تعیین ناقلین به منظور تشخیص پیش از تولد در خانواده های مبتلا می تواند در کاهش شیوع این بیماری مؤثر باشد. از آن جایی که آنالیز پیوستگی برای تشخیص حاملین فقط در خانواده هایی با سابقه ی خانوادگی هموفیلی A کاربرد دارد بنابراین روش IS-PCR به عنوان روشی مناسب و مطمئن برای شناسایی ناقلین دارای جهش وارونگی اینترون ۲۲ حتی در موارد تک گیر هموفیلی انتخاب شد.
روش کار: این مطالعه بر روی خانواده های بیماران مبتلا به هموفیلی A دارای وارونگی اینترون ۲۲ انجام گرفت. پس از استخراج DNA از لکوسیت های خون محیطی، از تکنیک IS-PCR به منظور شناسایی جهش وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ استفاده شد.
یافته ها: از ۹ نفر که برای وضعیت ناقل بودن به روش IS-PCR مورد آنالیز قرار گرفتند، ۲۲/۲٪ فاقد آلل جهش یافته و ۷۷/۸٪ ناقل جهش وارونگی اینترون ۲۲ بودند.
نتیجه گیری: طبق نتایج بدست آمده از این مطالعه تکنیک IS-PCR روشی دقیق، سریع و قابل اعتماد جهت شناسایی جهش وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ برای تشخیص ناقلین هموفیلی A می باشد.

کلید واژه ها: تشخیص هتروزیگوت، هموفیلی A، وارونگی کروموزوم، PCR.

نحوه استناد به این مقاله: بحر العلوم ح، هاشمی م، ملک عسگر ع. شناسایی جهش وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ ژن فاکتور ۸ در زنان ناقل هموفیلی A به روش Inverse Shifting-PCR (IS-PCR). مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۲۱-۲۷

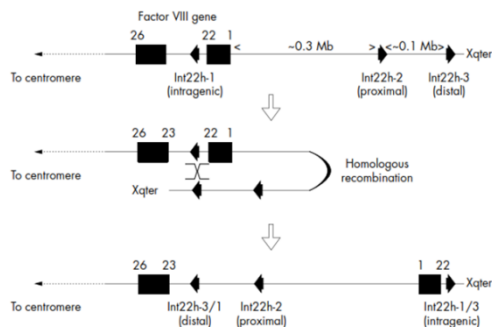
حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

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

بیماری هموفیلی A یک بیماری خونریزی‌دهنده مادرزادی وابسته به X مغلوب ناشی از کاهش فعالیت فاکتور VIII با شیوع ۱:۵۰۰۰ تا ۱:۱۰۰۰۰ نوزاد زنده‌ی پسر در سراسر جهان می‌باشد (۱،۲). مردان به علت داشتن یک کروموزم X با دریافت یک ژن معیوب به هموفیلی مبتلا می‌شوند، در حالیکه زنان با دریافت یک ژن معیوب شکل علامت‌دار بیماری را نشان نداده ولی به عنوان ناقلین نقش عمده‌ای در انتقال بیماری به فرزندان پسر خود ایفا می‌کنند. به این ترتیب ۵۰٪ پسران یک زن ناقل، بیمار و ۵۰٪ دختران وی حامل ژن معیوب خواهند بود (۳). در موارد فوق‌العاده نادری زنان ناقل ممکن است مبتلا به هموفیلی A باشند؛ به عنوان مثال، اگر در آن‌ها غیر فعال شدن نامتعادل کروموزوم X طبیعی (فرضیه لیون)، سندرم ترنر یا سایر اختلالات نادر کروموزوم X وجود داشته باشد یا اگر آن‌ها دختر یک مرد مبتلا و یک زن ناقل باشند (۴). تخمین زده شده است که برای هر مرد هموفیل، ۵ زن حامل بالقوه وجود دارد (۵). بیماری هموفیلی A بسته به سطح فعالیت انعقادی فاکتور VIII به انواع هموفیلی A شدید (<۱٪)، متوسط (۱٪-۵٪) و خفیف (>۵٪) طبقه‌بندی می‌شود (۴). خونریزی‌های داخلی، نگرانی عمده در بیماری هموفیلی است. خونریزی داخلی مفاصل مانند؛ زانو، مچ پا و آرنج شایع است. این خونریزی‌ها ممکن است به دلیل یک آسیب وارد شده ایجاد شود اما در هموفیلی شدید، خونریزی می‌تواند خود به خود ایجاد شود (۶). انتظار می‌رود که زنان ناقل، میزان غلظت فاکتور ۸ موجود در پلاسما آنها نیمی از غلظت موجود در افراد سالم باشد که به طور کلی برای هموستاز نرمال کافی است. با این وجود حدوداً ۱۰٪ از زنان با یک آلل بیماری زای فاکتور VIII و یک آلل سالم، دارای فعالیت انعقادی فاکتور VIII کمتر از ۳۰٪ و اختلال خونریزی دهنده می‌باشند (۷، ۸). ژن فاکتور VIII انعقادی نزدیک به ناحیه تلومری کروموزوم X در منطقه Xq28 قرار دارد. این ژن یک ژن بزرگ و پیچیده است که ۱۸۶ کیلو باز از DNA ژنومی را پوشانده و متشکل از ۲۵ اینترون و ۲۶ اگزون می‌باشد که یک زنجیره‌ی پلی پپتیدی پیش ساز ۲۳۵۱ اسید آمینه ای را رمز می‌کند که این زنجیره شامل یک پپتید سیگنال ۱۹ اسید آمینه‌ای و پروتئین بالغ ۲۳۳۲ اسید آمینه‌ای می‌باشد (۹-۱۱). از جمله اختلالات ژنتیکی که منجر به ایجاد هموفیلی A می‌شود می‌توان به حذف‌ها، وارونگی‌های ژنی و جهش‌های نقطه‌ای اشاره نمود (۱۲). در هموفیلی A شدید، ۴۰٪ از تمام جهش‌ها توسط وارونگی اینترون ۲۲ ایجاد می‌شود (۹). اینترون ۲۲ ژن فاکتور VIII حاوی یک ژن دوم (ژن A مرتبط با فاکتور VIII) است که در جهت مخالف فاکتور VIII رونویسی می‌شود. دو کپی دیگر از F8A در حدود ۵۰۰ کیلو باز بالادست (تلومریک) ژن فاکتور VIII وجود دارد که هر دو در همان جهت ژن فاکتور VIII رونویسی می‌شود. این ویژگی این امکان را می-

دهد تا یک نوترکیبی همولوگی داخل کروموزومی رخ دهد که منجر به وارونگی این منطقه و جدا شدن اگزون ۲۲-۱ از اگزون ۲۳-۲۶ شود. از آن جا که دو نسخه بالادست از ژن F8A وجود دارد، وارونگی دیستال (وارونگی نوع ۱) و پروکسیمال (وارونگی نوع ۲) امکان پذیر می‌باشد که هر دو منجر به فنوتیپ هموفیلی A شدید می‌شود (۱۱) شکل ۱.



شکل ۱: وارونگی اینترون ۲۲ دیستال (نوع ۱) و پروکسیمال (نوع ۲) ژن فاکتور VIII (۱۳).

به دلیل مشکلات فراوانی که بیماری هموفیلی برای افراد مبتلا و خانواده‌های آن‌ها دارد و نیز هزینه‌های گزافی که این بیماری بر سیستم درمانی جامعه تحمیل می‌نماید و همچنین با توجه به اینکه فعلاً درمان قطعی برای این بیماری وجود ندارد، تلاش‌های گسترده‌ای در سرتاسر جهان به منظور ابداع روش‌هایی برای شناسایی افراد ناقل بیماری و همچنین تشخیص پیش از تولد به منظور کنترل بیماری صورت می‌گیرد (۱۴). در گذشته، تجزیه و تحلیل شجرنامه‌ها و اندازه‌گیری سطوح فعالیت انعقادی فاکتور ۸ برای تشخیص ناقلین هموفیلی A استفاده می‌شد (۱۵). از طریق آنالیز شجرنامه، مشخص می‌شود که ناقل معلوم، دختر یک بیمار هموفیل است. همچنین مادر دو بیمار هموفیل و مادر فرد مبتلا به هموفیل با سابقه خانوادگی هموفیلی در شجرنامه قابل ردیابی هستند (۱). در اوایل دهه ۱۹۸۰ بررسی وضعیت ناقلین توسط آنالیز DNA ممکن شد که این روش از هاپلوتایپینگ تا تجزیه و تحلیل موتاسیون‌ها که وضعیت ناقلین را بصورت قطعی ارائه می‌کند تکامل یافت (۱۶). تست تشخیص ناقلین بوسیله آزمایش‌های ژنتیک مولکولی برای بسیاری از زنان در معرض خطر اگر واریانت بیماری‌زا در خانواده آن‌ها شناسایی شده باشد، امکان‌پذیر است (۱). با توجه به اینکه حدود نیمی از موارد هموفیلی A شدید به علت وارونگی اینترون ۲۲ ژن فاکتور ۸ رخ می‌دهد معمولاً در بررسی مولکولی این بیماری در خانواده‌های مبتلا ابتدا باید این جهش مورد ارزیابی قرار بگیرد (۱۷). روش‌های ارزیابی ژنتیکی وارونگی اینترون ۲۲ شامل؛ آنالیز ساترن بلات (توصیف شده توسط Lakich و همکاران در سال ۱۹۹۳)، روش LD-PCR (ارائه

ژل آگارز و اسپکتروفوتومتری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. در تکنیک IS-PCR از ۴ نوع پرایمر ۱U، ۲U، ۳U و ID برای بررسی وارونگی ایترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ استفاده شد. آغازگرهای IU/ID برای تکثیر آل نرمال ایترون ۲۲ (۴۸۷ جفت باز)، آغازگرهای U/ID۳ برای تکثیر آل وارونگی ایترون ۲۲ نوع ۱ (۳۳۳ جفت باز) و آغازگرهای U/ID۲، جهت تکثیر آل وارونگی ایترون ۲۲ نوع ۲ (۳۸۵ جفت باز) به کار برده شد. پرایمرها با استفاده از نرم افزار Oligo.5 طراحی شد و جهت ستز به شرکت Bioneer سفارش داده شدند. مشخصات پرایمرهای استفاده شده در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای طراحی شده برای تکثیر ایترون ۲۲ ژن فاکتور ۸

نوع پرایمر	طول توالی	توالی پرایمر	NC_000023.9
1 D	۲۱	ACA TAC GGT TTA GTC ACA AGT	۶۰۸-۱۵۳۷۵۵۱۷
1 U	۲۰	CCT TTC AAC TCC ATC TCC AT	۵۰-۱۵۳۷۹۷۳۰
2 U	۲۰	ACG TGT CTT TTG GAG AAG TC	۹۵-۱۵۴۲۷۰۱۷۵
3 U	۲۲	CTC ACA TTG TGT TCT TGATGTC	۴۸-۱۵۴۳۳۴۲۶

در مرحله بعد به منظور تعیین ناقلین جهش وارونگی ایترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ تکنیک IS-PCR به این صورت مورد استفاده قرار گرفت که در مرحله اول جهت هضم آنزیمی DNA، ۲ میکروگرم از DNA ژنومی با ۲۰ واحد آنزیم محدودالتر Bcl1 (۱۰ واحد بر میکرولیتر) (ترموساینتیفیک، آلمان) به مدت ۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد در دستگاه انکوباتور قرار گرفت. سپس قطعات DNA به روش فنول-کلروفرم و رسوب با اتانول خالص گردید. در مرحله بعد جهت دستیابی به DNA حلقوی که اساس روش IS-PCR می‌باشد، قطعات DNA تحت تأثیر ۳ واحد آنزیم T۴ لیگاز (۲/۵ واحد بر میکرولیتر) (ژنا بیوساینس، آلمان) در حجم نهایی ۴۰۰ میکرولیتر به مدت یک شبانه روز در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت و پس از آن به منظور آماده‌سازی DNA برای واکنش PCR، خالص‌سازی DNA به روش فنول-کلروفرم و رسوب با اتانول انجام شد. در مرحله آخر، واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر برای هر واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر از DNA حلقوی، در حضور ۰/۶ میکرومولار از هر پرایمر (۱۰۰ پیکومول بر میکرولیتر) (بیونیر، ایران)، ۰/۵ واحد از DNA تک پلیمرز به همراه معرف‌های لازم برای واکنش PCR شامل؛ بافر (۱۰X) (ژنو بیوساینس، آلمان)، MgCl۲ (۲۵ میلی‌مولار) (ژنو بیوساینس، آلمان)، دئوکسی نوکلئوتید تری فسفات dNTP (۱۰ میلی‌مولار) (ژنوبیوساینس، آلمان) و آنزیم Taq پلی‌مراز (۵ واحد بر میکرولیتر) (ژنوبیوساینس، آلمان) انجام شد. در این روش، چون از ۳ جفت پرایمر جهت شناسایی وارونگی‌های ایترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ و همچنین آل نرمال استفاده می‌شود به همین دلیل برای

شده توسط Bagnall و همکاران در سال ۲۰۰۶) و تکنیک IS-PCR توصیف شده توسط Rossetti و همکاران در سال ۲۰۰۸ می‌باشند (۹، ۱۸-۱۹). روش ساترن بلات قادر به ارزیابی نیمه کمی از حاملین موزائیسیم می‌باشد اما این روش کار فشرده‌ای است و نیاز به پرسنل مجرب دارد. استفاده از مواد رادیوشیمیایی خطرناک یکی دیگر از نقاط ضعف این روش می‌باشد. همچنین این روش برای تشخیص‌های پیش از تولد نیز ناکارآمد است (۹). روش LD-PCR نیز قادر به ارزیابی انواع وارونگی‌ها می‌باشد اما این روش به کیفیت DNA ورودی، شرایط ترموسایکلینگ و معرف‌ها حساس بوده و همچنین الکتروفورز در این روش به آهستگی انجام می‌شود و بنابراین برای ارزیابی ناقلین روش مناسبی نمی‌باشد (۱۸). اما روش IS-PCR می‌تواند تمام باز آرایه‌های مرتبط با ایترون ۲۲ مانند وارونگی، حذف‌های بزرگ، مضاعف شدگی، واردشدگی و جایجایی را مورد ارزیابی قرار دهد (۱۴). همچنین این روش قادر به ارزیابی ناقلین وارونگی ایترون ۲۲ می‌باشد و برای تشخیص‌های پیش از تولد هموفیلی نیز کاربرد دارد (۱۹). هدف از مطالعه حاضر شناسایی ناقلین جهش وارونگی ایترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ به روش نوین IS-PCR می‌باشد.

روش کار

در این مطالعه توصیفی که به تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران به شماره مرجع IR.IAU.TMU.REC.1395.276 رسیده است، پس از هماهنگی لازم با بخش خون و انکولوژی بیمارستان حضرت معصومه (س) استان قم، ۳۰ خانواده دارای بیمار مبتلا به هموفیلی A پس از مراجعه به درمانگاه طباطبایی استان قم و تکمیل فرم شرح حال و رضایت‌نامه جهت شرکت در مطالعه انتخاب شدند. کلیه مراحل این تحقیق در مرکز تحقیقات جهاد دانشگاهی استان قم و در بازه زمانی آذر ماه ۱۳۹۳ تا دی ماه ۱۳۹۴ به انجام رسید. در بررسی وضعیت بیماران مشخص شد که ۷ نفر از بیماران مبتلا به هموفیلی A دارای جهش وارونگی ایترون ۲۲ می‌باشند. بنابراین بستگان مونث این ۷ بیمار وارد مطالعه شدند. از این میان ۴ زن ناقل اجباری و ۲ زن ناقل احتمالی وجود داشت که این ۲ دارای فرزند پسر مبتلایی بودند که به صورت تک مودی این بیماری را نشان داده بودند و سابقه بیماری در خویشاوندان آنها وجود نداشت. هم چنین ۳ خواهر مشکوک به ناقل بودن نیز مورد بررسی قرار گرفتند. ۳ سی‌سی خون محیطی از هر فرد شرکت کننده در مطالعه گرفته و در لوله‌های فالتون استریل حاوی مقدار مناسب EDTA، جهت استخراج DNA جمع آوری گردید. سپس DNA ژنومی با استفاده از روش اشباع نمکی (Salting out) از لوکوسیت‌های خون محیطی بیماران استخراج گردید و پس از آن سنجش کیفیت و غلظت DNA های استخراج شده با استفاده از روش الکتروفورز

نتایج باندهای تکثیرشده با استفاده از آزمایش IS-PCR بر روی ژل آگارز و تست تشخیص ناقلین جهش وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ در شکل شماره ۲ نمایش داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، برای نمونه‌ی هتروزیگوت وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱، دو باند ۴۸۷ جفت باز برای آلل نرمال و ۳۳۳ جفت باز برای آلل جهش یافته ایجاد شده است و همچنین برای نمونه هتروزیگوت وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۲، دو باند ۴۸۷ جفت باز برای آلل نرمال و ۳۸۵ جفت باز برای آلل جهش یافته ایجاد شده است.

بحث

بیماری هموفیلی A شایع‌ترین اختلال خونریزی‌دهنده وابسته به کروموزوم X است. این اختلال را به سه فرم خفیف، متوسط و شدید تقسیم‌بندی می‌نمایند. از لحاظ پزشکی فرم شدید هموفیلی A اثرات بسیار مخاطره‌آمیزی را چه از نظر بهداشتی و چه از نظر اقتصادی و روانی بر جامعه می‌گذارد (۲۰). تقریباً نیمی (۴۰-۵۰٪) گستره جهانی از موارد هموفیلی A شدید توسط یک بازآرایی همولوگی خود به خودی که در نتیجه باعث وارونگی اینترون ۲۲ در ژن فاکتور ۸ می‌شود رخ می‌دهد (۲۱). بنابراین از آن جا که وارونگی اینترون ۲۲ از مهم‌ترین نقاط داغ جهش در ژن فاکتور ۸ و علت نخستین هموفیلی A شدید می‌باشد، باید در وهله ی اول این موتاسیون در خانواده‌ها و بیماران مبتلا مورد بررسی قرار بگیرد (۲۲). تعیین افراد ناقل در خانواده‌های مبتلا به هموفیلی A نتایج مهمی (از قبیل شناسایی افرادی که نیاز به تشخیص قبل از تولد برای بیماری هموفیلی A دارند به منظور پیشگیری از تولد کودکان مبتلا و جلوگیری از گسترش بیماری) خواهد داشت. از آنجایی که برای تعیین وضعیت ناقلین هموفیلی A، روش آنالیز پیوستگی تنها در خانواده‌هایی با سابقه خانوادگی بیماری قابل انجام است در حالیکه ۳۰٪ از موارد هموفیلی A بدون سابقه خانوادگی هموفیلی ایجاد می‌شود و همچنین با توجه به اینکه دیگر روش‌های مولکولی ارزیابی ناقلین، مانند روش ساترن بلات و LD-PCR حساس و زمان بر بوده و نیاز به مهارت‌های تکنیکی بالایی دارد، لذا در این مطالعه از روش نوین IS-PCR جهت ارزیابی وضعیت ناقلین وارونگی‌های اینترون ۲۲ ژن فاکتور ۸ استفاده گردید (۹،۱۸،۲۳). با توجه به بررسی وضعیت ناقلین، مادر پسر مبتلا به هموفیلی A شانس حدوداً ۸۰٪ را برای ناقل بودن دارد زمانیکه پسر او اولین فرد مبتلا در خانواده باشد و این شانس حتی بالاتر است (۹۸٪) زمانیکه فقط وارونگی اینترون ۲۲ در نظر گرفته شود (۲۴). در این مطالعه که بستگان مونث بیماران هموفیل A دارای وارونگی اینترون ۲۲ به روش IS-PCR مورد آنالیز قرار گرفتند، ۲ مورد فاقد جهش وارونگی اینترون ۲۲، ۲ نفر ناقل وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱ و ۵ نفر نیز ناقل وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۲ شناسایی شدند. طبق نتایج همه مادران بیماران دارای جهش وارونگی

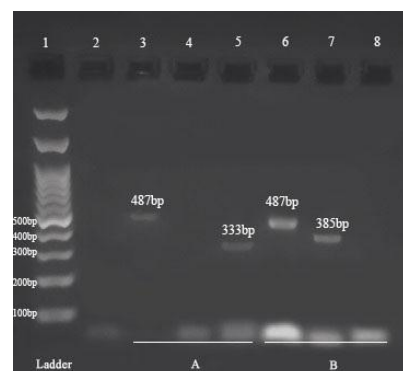
هر نمونه DNA، ۳ واکنش PCR در نظر گرفته شد. به این صورت که در یک واکنش جفت پرایمر ID و IU، در دومی جفت پرایمر ID و U۳ و در سومی جفت پرایمر ID و U۲ اضافه گردید. برنامه PCR مطابق با ۱ چرخه دمایی ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت سه دقیقه، ۳۲ چرخه دمایی شامل؛ ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۸ درجه سانتیگراد به مدت ۵۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱:۲۰ دقیقه و در آخر یک چرخه دمایی در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر اجرا شد. پس از آن، محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز شدند و سپس توسط دستگاه ترانس ایلیمیناتور (UVP, Canada) از نظر وجود یا عدم وجود باندهای مربوطه مورد ارزیابی قرار گرفتند و در نهایت از ژل مورد نظر عکسبرداری شد. در این مطالعه آنالیز داده‌های پژوهش از روش آمار توصیفی با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ محاسبه شد.

یافته‌ها

در این تحقیق ۹ نفر از بستگان مونث بیماران دارای جهش های وارونگی اینترون ۲۲ با میانگین سنی ۳۴/۶۶ سال، شامل ۶ مادر و ۳ خواهر جهت تعیین وضعیت ناقل بودن برای جهش وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ به روش IS-PCR مورد آنالیز قرار گرفتند. طبق نتایج از ۹ نفر مورد بررسی ۷ نفر ناقل جهش وارونگی اینترون ۲۲ و ۲ نفر غیر ناقل بودند. فراوانی ناقلین جهش وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ در این بررسی در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲: فراوانی ناقلین جهش وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ در جمعیت مورد مطالعه

تعداد افراد	ناقل جهش وارونگی اینترون ۲۲	غیر ناقل
۹ (۱۰۰٪)	۷ (۷۷/۸٪)	۲ (۲۲/۲٪)
	وارونگی نوع ۱ ۲ (۲۸/۶٪)	وارونگی نوع ۲ ۵ (۷۱/۴٪)



شکل ۲: نتایج PCR نمونه‌های ناقلین دارای جهش هتروزیگوت وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲: ۱: نشانگر ۱۰۰ جفت بازی؛ ۲: نمونه کنترل منفی، A (۳،۴،۵): فرد ناقل وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۱، B (۶،۷،۸): فرد ناقل وارونگی اینترون ۲۲ نوع ۲.

تمام مادران بیماران هموفیلی A دارای جهش وارونگی ایترون ۲۲، حامل آلل هتروزیگوت بودند، می‌توان نتیجه گرفت که در هیچ یک از بیماران، جهش وارونگی ایترون ۲۲ به شکل جهش نوپدید رخ نداده است و همه بیماران آلل جهش یافته را از مادر ناقل خود به ارث برده‌اند. در این مطالعه ما از روش IS-PCR به عنوان یک روش مبتنی بر PCR معکوس و طراحی شده به عنوان یک روش جایگزین برای ساترن بلات و LD-PCR به منظور تشخیص مولکولی جهش وارونگی ایترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ استفاده کردیم که طی این تحقیق جهش مورد نظر توسط تکنیک IS-PCR در خانواده‌های مبتلا به هموفیلی A استان قم مورد بررسی قرار گرفت و به طور کلی نشان داده شد که این تکنیک روشی سریع، قوی و قابل اعتماد به منظور تشخیص ناقلین جهش وارونگی ایترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ می‌باشد.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج حاصل از این تحقیق استفاده از تکنیک IS-PCR، به عنوان روشی ساده، سریع و مقرون به صرفه برای شناسایی ناقلین جهش وارونگی ایترون ۲۲ نوع ۱ و نوع ۲ در خانواده‌هایی با بیماری هموفیلی A امکان‌پذیر می‌باشد. همچنین با توجه به کارایی تکنیک IS-PCR در تشخیص‌های پیش از تولد نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند در این زمینه مورد استفاده قرار بگیرد.

قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد به شماره طرح ۱۳۶۳۰۵۰۳۹۳۱۰۰۶ مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران می‌باشد. بدینوسیله از کلیه همکاران محترم کانون هموفیل استان قم، پرسنل درمانگاه طباطبایی استان قم به ویژه جناب دکتر کمال اسحاق حسینی و همچنین کلیه پرسنل مرکز تحقیقات جهاد دانشگاهی استان قم به ویژه جناب آقای ناصر کله‌ر قدردانی می‌شود.

ایترون ۲۲ ناقل این جهش بودند و از سه خواهر مورد بررسی یک مورد ناقل جهش وارونگی ایترون ۲۲ بود. در مطالعه ای که توسط Tizzano و همکاران در سال ۱۹۹۵ در جمعیت اسپانیایی به انجام رسید مشاهده شد که همه‌ی مادران بیماران مبتلا به هموفیلی A دارای جهش وارونگی ایترون ۲۲، حامل آلل جهش یافته هستند. همچنین نشان داده شد که منشاء وارونگی ایترون ۲۲ در سلول-های زایای مذکر است (۲۵). در مطالعه Antonarakis و همکاران در سال ۱۹۹۵، داده‌های ۲۰۹۳ نمونه از سراسر آزمایشگاه‌های جهان جمع‌آوری گردید. داده‌های برگرفته از این مطالعه نشان داد که ۹۸٪ از تمام مادران بیماران دارای وارونگی ایترون ۲۲، حامل جهش بودند و تنها یک رویداد وارونگی نوپدید در سلول‌های سوماتیک مادری برای هر ۲۵ مادر از موارد تک گیر رخ داده بود. هنگامی که منشاء وارونگی اجدادی مادری در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت، نسبت وقوع جهش نو پدید در سلول‌های زایای مرد: زن، ۱:۶۹ گزارش شد (۲۶). در مطالعه Oldenburg و همکاران در سال ۲۰۰۰ اولین نمونه از وارونگی ایترون ۲۲ که به صورت موزائیکم سوماتیک در یک زن وجود داشت گزارش شد که تنها حدود ۵۰٪ از لمفوسیت‌ها و سلول‌های فیبروبلاست او را تحت تاثیر قرار داده بود. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که جهش وارونگی ایترون ۲۲ به تقسیمات سلولی طی میوز محدود نمی‌باشد، و می‌تواند در طی تقسیمات سلولی میتوز، در پیش سازهای ژرم سل و یا در سلولهای سوماتیک نیز رخ دهد (۲۷). در مطالعه‌ای دیگر در کشور آرژانتین که ۳۴ خانواده مبتلا به هموفیلی A شدید به روش ساترن بلات مورد بررسی قرار گرفتند نشان داده شد که تمام مادران بیماران با وارونگی ایترون ۲۲ حاملین هتروزیگوت می‌باشند (۲۸). همچنین در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ توسط Ilic و همکاران در صربستان انجام شد ۲۴ مادر برای وضعیت ناقل بودن وارونگی ایترون ۲۲ به روش IS-PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند که از این تعداد تنها یک نفر ناقل جهش مورد نظر نبود و جهش وارونگی ایترون ۲۲ به صورت جهش نوپدید در فرزند او ایجاد شده بود (۲۹). در مطالعه حاضر با توجه به اینکه

References

1. Tantawy A G. Molecular genetics of hemophilia A: Clinical perspectives. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics* 2010; **11**(2): 105-114. doi: 10.1016/j.ejmhg.2010.10.005
2. Stonebraker J S, Bolton-Maggs P H, Soucie J M, Walker I, Brooker M. A study of variations in the reported haemophilia prevalence around the world. *Hemophilia* 2010; **16**: 20-32. doi: 10.1111/j.1365-2516.2009.02127.x
3. Pruthi R K. Hemophilia: a practical approach to genetic testing. *Mayo Clin Proc* 2010; **85**(11): 1485-1499. doi: 10.4065/80.11.1485
4. Bustamante-Aragones A, Rodriguez de Alba M, Gonzalez-Gonzalez C, Trujillo-Tiebas M J, Diego-Alvarez D, Vallespin E, et al. Foetal sex determination in maternal blood from the seventh week of gestation and its role in diagnosing haemophilia in the foetuses of female carriers. *Haemophilia* 2008; **14**(3): 593-598. doi: 10.1111/j.1365-2516.2008.01670.x
5. Pavlova A, Brondke H, Sebeck J, Pollmann H, Srivastava A, Oldenburg J. Molecular mechanisms underlying hemophilia A phenotype in seven females. *J Thromb Headmost* 2009; **7**(6): 976-982. doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03346.x

6. Sona P S, Lingam C M. Hemophilia-An overview. *IJPSRR* 2010; **5**(1): 18-26. doi: 10.1002/9781444318555.ch35
7. Ay C, Thom K, Abu-Hamdeh F, Horvath B, Quehenberger P, Male C, et al. Determinants of factor VIII plasma levels in carriers of haemophilia A and in control women. *Haemophilia* 2010; **16**(1): 111-117. doi: 10.1111/j.1365-2516.2009.02108.x
8. Plug I, Mauser-Bunschoten EP, Bröcker-Vriends AH, van Amstel H K, van der Bom J G, van Diemen-Homan J E, et al. Bleeding in carriers of hemophilia. *Blood* 2006; **108**(1): 52-56. doi: 10.1111/j.1365-2516.2011.02742.x
9. Lakich D, Kazazian H H, Antonarakis S E, Gitschier J. Inversions disrupting the factor VIII gene is a common cause of severe haemophilia A. *Nat Genet* 1993; **5**: 236-241. doi: 10.1038/ng1193-236
10. Thompson A R. Structure and function of the factor VIII gene and protein. *Semin Thromb Hemost* 2003; **29**(1): 11-22. doi: 10.1055/s-2003-37935
11. Andrikovics H, Klein I, Bors A, Nemes L, Marosi A, Varadi A, et al. Analysis of Large Structural Changes of The Factor VIII Gene, Involving Intron 1 and 22, in Severe Hemophilia A. *Haematologica* 2003; **88**: 778-784. doi: 10.1016/s0268-960x(07)70029-2
12. Payne A B, Miller C H, Kelly F M, Soucie J M, Hooper W C. The CDC Hemophilia A Mutation Project (CHAMP) Mutation List: a New Online Resource. *Human mutation* 2013; **34**(2): 2382-2391. doi: 10.1002/humu.22247
13. Bowen D J. Haemophilia A and haemophilia B: molecular insights. *Molecular Pathology* 2002; **55**(2): 127-144. doi: 10.1136/mp.55.2.127
14. Karimipour M, Zeinali S, Lak M, Safaei R. Carrier testing and prenatal diagnosis of haemophilia B by SSCP in an Iranian family. *Haemophilia* 2003; **9**(1): 116-118. doi: 10.1046/j.1365-2516.2003.00710.x
15. Renault N K, Dyack S, Dobson M J, Costa T, Lam W L, Greer W L. Heritable skewed X-chromosome inactivation leads to haemophilia A expression in heterozygous females. *Eur J Hum Genet* 2007; **15**(6): 628-637. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201799
16. Rossetti L C, Radic C P, Abelleiro M M, Larripa IB, De Brasi C D. Eighteen years of molecular genotyping the hemophilia inversion hotspot: from southern blot to inverse shifting-PCR. *Int J Mol Sci* 2011; **12**(10): 7271-7285. doi: 10.3390/ijms12107271
17. Rouzafzay N, Kokabi L, Zeinali C, Kiarimipour M. A study of intron 22 inversion type i and ii of coagulation factor 8 gene in patients with severe hemophilia a using IS-PCR technique. *Qom Univ Med Sci J* 2013; **7**(5): 28-34. [Full Text in Persian]
18. Bagnall R D, Giannelli F, Green PM. Int 22h-related inversions causing hemophilia A: a novel insight into their origin and a new more discriminant PCR test for their detection. *J Thromb Haemost* 2006; **4**(3): 591-598. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.01840.x
19. Rossetti L C, Radic C P, Larripa I B, De Brasi C D. Developing a new generation of tests for genotyping hemophilia-causative rearrangements involving int22h and int1h hotspots in the factor VIII gene. *J Thromb Haemost* 2008; **6**(5): 830-836. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.02926.x
20. Mustafa M, Moktar AY, Firdaus H, Ilzam EL, Nornazirah A, Sharifa AM. Hemophilia a Genetic Disorder: Diagnosis, Treatment and Prognosis. *IOSR-JDMS* 2016; **15**(10): 85-89. doi: 10.9790/0853-15100494101
21. Iqbal W, Raza M, Suleman khan M. Intron 22 inversions in severe Hemophiliacs. *AJMS* 2013; **3**(6): 190-196. doi: 10.1055/s-0037-1615084
22. Mantilla-Capacho J M, Beltrán-Miranda C P, Luna-Záizar H, Aguilar-López L, Esparza-Flores MA, López-Guido B, et al. Frequency of intron 1 and 22 inversions of Factor VIII gene in Mexican patients with severe hemophilia A. *Am J Hematol* 2007; **82**(4): 283-287. doi: 10.1002/ajh.20865
23. Price V E, Hawes S A, Chan A K. A practical approach to hemophilia care in children. *Pediatric Child Health* 2007; **12**(5): 381-383. doi: 10.1093/pch/12.5.381
24. Leuer M, Oldenburg J, Lavergne J M, Ludwig M, Fregin A, Eigel A, et al. Somatic mosaicism in hemophilia A: a fairly common event. *Am J Hum Genet* 2001; **69**(1): 75-87. doi: 10.1086/321285
25. Tizzano E F, Domènech M, Baiget M. Inversion of intron 22 in isolated cases of severe hemophilia A. *Thromb Haemost* 1995; **73**(1): 6-9. doi: 10.1055/s-0038-1651667
26. Antonarakis S E, Rossiter J P, Young M, Horst J, de Moerloose P, Sommer S S, et al. Factor VIII gene inversions in severe hemophilia A: results of an international consortium study. *Blood* 1995; **86**(6): 2206-2212. doi: 10.1093/hmg/3.7.1035
27. Oldenburg J, Rost S, El-Maarri O, Leuer M, Olek K, Müller C R, et al. De novo factor VIII gene intron 22 inversion in a female carrier presents as a somatic mosaicism. *Blood* 2000; **96**(8): 2905-2906. doi: 10.1007/978-3-642-59633-9_46
28. De Brasi C, Candela M, Cermelj M, Slavutsky I, Larripa I, Bianco R P, et al. Intron 22 factor VIII gene inversions in Argentine families with severe haemophilia A. *Haemophilia* 2000; **6**(1): 21-22. doi: 10.1046/j.1365-2516.2000.00365.x
29. Ilic N, Krstic A, Kuzmanovic M, Micic D, Konstantinidis N, Guc-Scekic M. Identification of intron 1 and intron 22 inversions of factor VIII gene in Serbian patients with hemophilia A. *Genetika* 2013; **45**(1): 207-216. doi: 10.2298/gensr1301207i

Original Article

Effect of a single session high intense interval exercise in hypoxic and normoxic conditions on serum concentration of interleukin-6 and 10 in active men

Zahra Pairo^{*}, Khosro Ebrahim, Alireza Salimi

Department of Exercise Physiology, School of Physical Education, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

^{*}Corresponding author; E-mail: paliz.1364@gmail.com

Received: 14 January 2017 Accepted: 9 March 2017 First Published online: 17 January 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February -March; 40(6):28-35

Abstract

Background: exercise induces considerable physiological change in the immune system. The aim of this study was to investigate the effect of a single session high intense interval exercise (HIIE) in hypoxic and normoxic conditions on serum concentration of interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) in active men.

Methods: The present study was semi experimental research Ten trained students volunteer in shahid Beheshti University participated in this study. General and clinical information was collected via questionnaire before exercise began. In addition some of body composition indexes of subjects were measured one day before exercise protocol. After determining maximum heart rate of subjects during HIIE which was consisted of three series, each series consisting of three one-minute repetitions with intensity of 80 to 85 percent of maximum heart rate and 2 minute rest between series in both hypoxic and normoxic conditions performed one week apart. Before, immediately after, and 1 h after exercise blood samples were taken from subjects. To measure IL-6 and IL-10 Elisa method was used.

Results: Finding showed that despite a significant increase in serum levels IL-6 due to HIIE between the two conditions did not differ significantly ($p = 0.078$). But with increased serum levels of IL-10 in HIIE there was significant difference between the two conditions ($p = 0.003$).

Conclusion: The short-term exercise under hypoxic conditions with the appropriate intensity could modify the immune system response and increased levels of IL-10.

Keyword: IL-6, IL-10, High Intense Interval Exercise, Hypoxic, Normoxic.

How to cite this article: Pairo Z, Ebrahim Kh, Salimi A. [Effect of a single session high intense interval exercise in hypoxic and normoxic conditions on serum concentration of interleukin-6 and 10 in active men]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February -March;40(6):28-35. Persian.

مقاله پژوهشی

اثر یک جلسه فعالیت اینتروال شدید در شرایط هایپوکسی و نورموکسی
بر غلظت اینترلوکین-۶ و ۱۰ سرم در مردان فعالزهرای پیرو^{*}، خسرو ابراهیم، علیرضا سلیمیگروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
^{*}نویسنده مسئول؛ ایمیل: paliz.1364@gmail.comدریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۹ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ بهمن و اسفند؛ ۴۰(۶): ۲۸-۳۵

چکیده

زمینه: فعالیت بدنی موجب تغییر فیزیولوژیک قابل توجهی در سیستم ایمنی می‌شود. هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر یک جلسه فعالیت اینتروال شدید در شرایط هایپوکسی و نورموکسی بر غلظت اینترلوکین-۶ (IL-6) و اینترلوکین-۱۰ (IL-10) سرم در مردان فعال بود.

روش کار: تحقیق حاضر از نوع نیمه تجربی بود، بدین منظور ۱۰ نفر از دانشجویان داوطلب مرد فعال دانشگاه شهید بهشتی تهران در این مطالعه شرکت کردند. قبل از شروع فعالیت، پرسشنامه مشخصات عمومی و پزشکی توسط آزمودنی‌ها تکمیل شد. به‌علاوه برخی از شاخص‌های ترکیب بدن آنها یک روز قبل از فعالیت اندازه‌گیری شد. پس از تعیین ضربان قلب بیشینه، آزمودنی‌ها ۱۹ دقیقه فعالیت اینتروال شدید شامل سه نوبت و هر نوبت شامل سه تکرار ۱ دقیقه‌ای با شدت ۸۰ تا ۸۵ درصد ضربان قلب بیشینه و ۲ دقیقه استراحت بین نوبت‌ها را در دو محیط هایپوکسی و نورموکسی به فاصله یک هفته از هم انجام دادند. قبل، بلافاصله و یک ساعت پس از فعالیت از آزمودنی‌ها نمونه خونی گرفته شد. سپس، فاکتورهای IL-6 و IL-10 با استفاده روش الایزا اندازه‌گیری شد. جهت بررسی اثر فعالیت اینتروال شدید در دو محیط بر فاکتورهای مورد اندازه‌گیری از آزمون ANOVA دو طرفه مکرر (۲×۳) استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که با وجود افزایش معنی‌دار سطح سرمی IL-6 در اثر فعالیت اینتروال شدید بین دو محیط تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0/078$). اما با افزایش سطح سرمی IL-10 در اثر فعالیت اینتروال شدید بین دو محیط تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($p=0/003$).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که فعالیت کوتاه‌مدت در شرایط هایپوکسی با شدت مناسب می‌تواند سبب تعدیل پاسخ‌های سیستم ایمنی و افزایش سطوح IL-10 شود.

کلید واژه‌ها: IL-6، IL-10، فعالیت اینتروال شدید، هایپوکسی، نورموکسی

نحوه استناد به این مقاله: پیرو، ز، ابراهیم، خ، سلیمی، ع. ر. اثر یک جلسه فعالیت اینتروال شدید در شرایط هایپوکسی و نورموکسی بر غلظت اینترلوکین-۶ و ۱۰ سرم در مردان فعال. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۲۸-۳۵

حق تألیف برای مؤلف محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کربیتو 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

مطالعات زیادی در طول سال‌های گذشته نشان داده‌اند که فعالیت بدنی موجب تغییر فیزیولوژیک قابل توجهی در سیستم ایمنی می‌شود (۱). تامین سلامت و بهبود عملکرد ورزشکاران از اهداف اصلی گرایش به فعالیت‌های بدنی و ورزش است. از این رو مربیان و ورزشکاران می‌کوشند تا سلامت ورزشکاران را هنگام تمرین و رقابت ورزشی حفظ کنند (۲). شواهد علمی نشان داده است بسیاری از ورزشکاران پس از انجام تمرینات شدید و رقابت‌های سنگین، به بیماری‌های عفونی، از جمله عفونت مجاری تنفسی فوقانی مبتلا می‌شوند (۳،۴). ورزش شدید با تغییرات ایمنی شناختی شامل، رهاسازی میانجی‌های التهابی، فعالیت انواع زیرواحدهای سلول‌های سفید خونی، فعالیت پروتئین‌های فاز حاد، افزایش فعالیت سایتوکاین‌های پیش التهابی و ضد التهابی و تغییراتی در شاخص‌های آسیب عضلانی همراه است (۵).

بعضی از سایتوکاین‌های التهاب‌زا شامل IL-6، TNF- α ، TGF- β ، LIF، HIF-1، IL-1 و IL-1 β و سایتوکاین‌های ضد التهابی IL-1ra، IL-4، IL-10، IL-12 و IL-13 می‌باشد (۶،۷). محققان بیان داشته‌اند که فعالیت بدنی شدید موجب پاسخ‌های پیش التهابی اولیه و سپس ضد التهابی می‌شود (۸).

اولین سایتوکاین‌ها که در رابطه با عفونت در گردش خون ظاهر می‌شوند شامل: TNF- α ، IL-1 β ، IL-6، IL-1ra و sTNF-R و IL-10 هستند (۹). هنگامی که IL-6 در پلاسما در اثر فعالیت بدنی افزایش می‌یابد در پی آن سطح‌های در گردش سایتوکاین‌های ضد التهابی مانند IL-1ra و IL-10 نیز افزایش می‌یابد (۱۰،۱۱). هنگامی که IL-6 توسط ماکروفاژها تولید می‌شود منجر به پاسخ التهابی می‌شود (۱۲). بدلیل اثرات ضد التهابی قوی IL-10 در تعدادی از شرایط التهابی بعنوان یک تنظیم‌کننده مهم سیستم ایمنی و التهابی نقش دارد (۱۳). مدت فعالیت بدنی یک عامل مهم در تعیین میزان IL-6 پلاسما بعد از فعالیت بدنی می‌باشد. IL-6 همچنین به شدت فعالیت بدنی حساس است و بطور غیر مستقیم با حجم عضله درگیر در فعالیت مرتبط است (۱۰).

بیشتر مطالعاتی که پاسخ سایتوکاین‌ها را هنگام فعالیت ورزشی بررسی کرده‌اند بیشتر از تمرینات استقامتی طولانی‌مدت یا تمرینات مقاومتی و کمتر از فعالیت ایتروال شدید استفاده کرده‌اند (۱۴). فعالیت بدنی با شدت متوسط و منظم سیستم ایمنی را تحریک کرده و در مقابل بیماری‌های عفونی مقاوم می‌کند. با این حال، اطلاعات خیلی کمی در مورد پاسخ التهابی بعد از فعالیت بدنی شدید وجود دارد. فعالیت ایتروال شدید شامل دوره‌های تکراری فعالیت شدید است که با دوره‌های کوتاه استراحت از هم جدا می‌شوند و موجب سازگاری‌های عملکردی فیزیولوژیک در یک مدت کوتاه می‌شود (۱۵). همچنین صعود به ارتفاع بعنوان یک عامل فشارزا که باعث تغییرات فیزیولوژیک و متابولیک می‌شود

شناخته شده است. هنگامی که فشار فعالیت جسمانی در ارتفاع زیاد اضافه می‌شود، این پاسخ‌های فیزیولوژیک و متابولیک تشدید می‌شوند. از طرفی در حال صعود به ارتفاع فشار هوا کاهش می‌یابد که موجب کاهش جزئی فشار اکسیژن هوای دم می‌شود و منجر به کاهش فشار و محتوای اکسیژن شریانی می‌گردد. این شرایط هایپوکسی اختلال عمده‌ای در هموستاز طبیعی ایجاد می‌کند که شامل پاسخ‌های غدد عصبی برای تنظیم کاهش محتوای اکسیژن شریانی است. این پاسخ‌های غده‌های عصبی توانایی تغییر عملکرد ایمنی را دارند. در طول قرار گرفتن در معرض ارتفاع، تنظیم IL-6 در گردش دیده شده است. همچنین، گفته شده است که فشار محیطی ناشی از قرار گرفتن در معرض ارتفاع به تنهایی میزان IL-6 در گردش را بالا نمی‌برد (۱۶).

تحقیقات بسیاری، افزایش چشمگیر در تعداد لوکوسیت‌ها و IL-6 سرم در حین و بلافاصله بعد از فعالیت خیلی سخت و طولانی‌مدت یک جلسه‌ای را نشان داده‌اند، که در ساعت‌های بعد از ورزش با افزایش در سایتوکاین ضد التهابی IL-10 همراه است (۸). Jong و همکاران در زمینه تاثیر هایپوکسی متناوب طولانی-مدت بر ترشح سایتوکاین‌های التهابی در اثر ورزش شدید (۲۰۰۷) افزایش در IL-6 و IL-10 را نشان دادند (۱۷). همچنین هاگوییان و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که تاثیر ارتفاع و ورزش بر پاسخ سایتوکاین‌ها باعث افزایش غلظت IL-6 پلاسما می‌شود (۱۸).

از آنجایی که فعالیت ایتروال شدید همراه با تغییرات فشار سهمی اکسیژن محیط موجب رها شدن سایتوکاین‌های سرم (IL-6 و IL-10) در هنگام و پس از ورزش می‌شود و این یک ساز و کار محافظتی برای مقابله با مهار عمومی پاسخ‌های ایمنی بعد از ورزش است، لذا شناخت صحیح فعالیت‌های ورزشی که باعث تعدیل عملکرد دستگاه ایمنی می‌شوند، از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد. بنابراین این تحقیق بر آن است که تاثیر هایپوکسی و فعالیت ورزشی را بر میزان سایتوکاین‌های سرم بررسی نماید. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر یک جلسه فعالیت ایتروال شدید در شرایط هایپوکسی و نورموکسی بر سایتوکاین‌های سرم طراحی شد تا بدین وسیله میزان شدت و مدت فعالیت در شرایط هایپوکسی و نورموکسی موثر بر غلظت سایتوکاین‌های سرم مشخص گردد.

روش کار

تحقیق حاضر از نوع نیمه تجربی با اندازه‌گیری مکرر و دو جلسه‌ای بود. آزمودنی‌های این تحقیق شامل ۱۰ نفر از دانشجویان مرد فعال دانشگاه شهید بهشتی با حداقل سابقه ۲ سال فعالیت ورزشی بودند که به صورت داوطلبانه در این پژوهش شرکت کردند. آزمودنی‌های این تحقیق با میانگین سن $21/6 \pm 1/5$ سال،

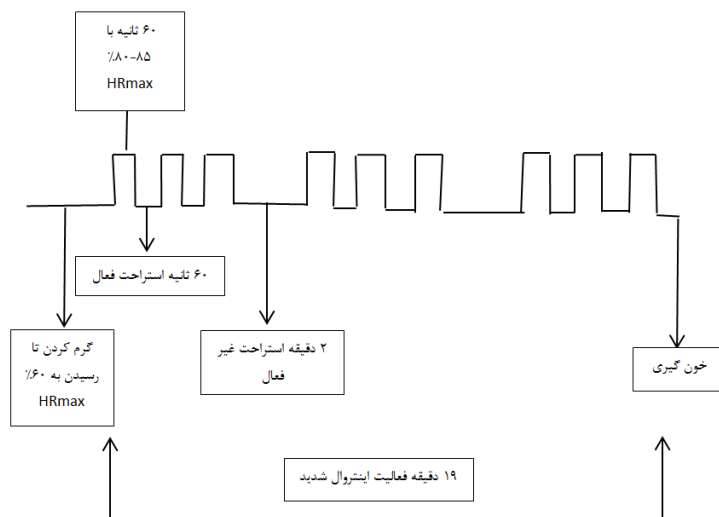
دوچرخه بود. بین سری ها یک استراحت ۲ دقیقه ای غیر فعال به منظور ریکاوری داشتند (تصویر ۱).

خون گیری قبل، بلافاصله و یک ساعت بعد از فعالیت از ورید بازویی آزمودنی ها در هر جلسه انجام شد. پس از نمونه گیری خون جهت جداسازی سرم، نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ (سانتریفیوژ BOECO-320R ساخت آلمان) شدند و سپس سرم ها در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد فریز شدند پس از آن سرم ها به آزمایشگاه برده شد تا به وسیله کیت های الایزا (ساخت فرانسه) تجزیه شوند. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ تجزیه و تحلیل شد. جهت تعیین طبیعی بودن داده ها از آزمون شپرو وایک استفاده گردید. برای تعیین تاثیر فعالیت در هر دو شرایط هایپوکسی و نورموکسی از آزمون ANOVA دوطرفه مکرر (۲×۳) استفاده شد. برای تمام تحلیل های آماری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج نشان داد تعامل معنی داری بین دو جلسه هایپوکسی و نورموکسی بر غلظت IL-۶ سرم وجود نداشت ($F_{(2,16)} = 3/002$, $p = 0/078$). در نتیجه نشان می دهد که تفاوتی بین دو محیط از لحاظ میزان سطح IL-۶ وجود ندارد (نمودار ۱).

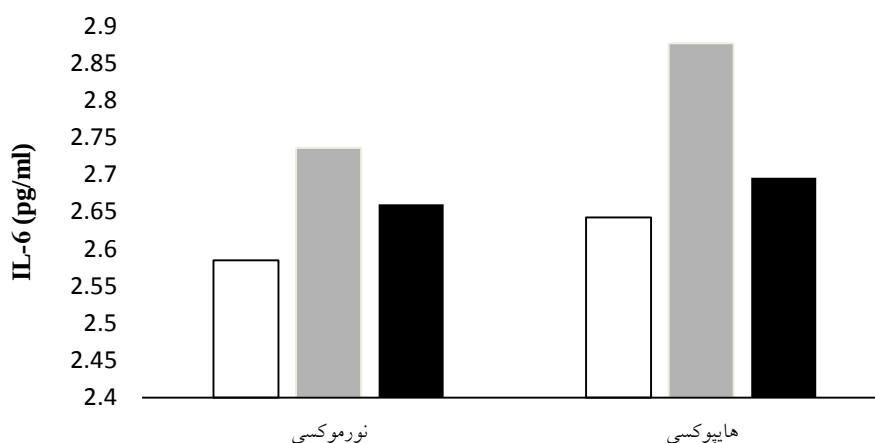
نتایج نشان داد تعامل معنی داری بین دو جلسه هایپوکسی و نورموکسی بر غلظت IL-۱۰ سرم وجود دارد ($F_{(2,16)} = 8/436$, $p = 0/003$). در نتیجه نشان می دهد که بین میزان سطح IL-۱۰ سرم در اثر فعالیت اینتروال شدید در شرایط هایپوکسی و نورموکسی تفاوت وجود دارد (نمودار ۲).



تصویر ۱. پروتکل فعالیت ورزشی

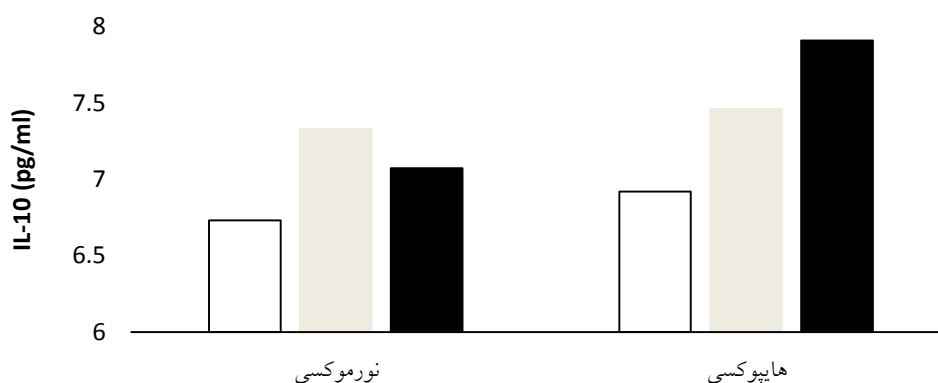
میانگین قد $176/5 \pm 5/96$ سانتی متر، میانگین وزن $10/18 \pm 69/29$ کیلوگرم و درصد چربی بدنی $15/32 \pm 5/11$ بودند. آزمودنی ها فرم رضایت نامه و پرسش نامه عمومی و سلامت را تکمیل کردند. از آزمودنی ها خواسته شد ۴۸ ساعت قبل از اجرای آزمون از هرگونه فعالیت شدید پیش از شروع تحقیق خودداری کنند. آزمودنی های این تحقیق در دو جلسه شرکت کردند. در جلسه اول با کنترل نوشیدن مایعات در قبل از آزمون و دادن صبحانه یکسان به آزمودنی ها و پس از ۲۰ دقیقه استراحت در شرایط آزمایشگاه ۱۹ دقیقه فعالیت ورزشی در شرایط نورموکسی را انجام دادند. در جلسه دوم با کنترل نوشیدن مایعات در قبل از آزمون و دادن صبحانه یکسان به آزمودنی ها و پس از ۲۰ دقیقه استراحت آزمودنی ها ۱۹ دقیقه فعالیت ورزشی در شرایط هایپوکسی (چادر هایپوکسی کاتور با دستگاه میکروپروسسور BIOMEDTECH ساخت کشور استرالیا) با ۱۵ درصد اکسیژن معادل ارتفاع ۲۷۵۰ متر را انجام دادند. در حین آزمون و در زمان ریکاوری پس از آزمون میزان نوشیدن مایعات کنترل شد.

در هر جلسه از فعالیت، پس از بستن ضربان سنج الکتریکی برای آزمودنی ها گرم کردن بر روی دوچرخه (دوچرخه کارسنج مونارک ۸۳۹ ساخت هلند) انجام شد. گرم کردن بصورت شروع با بار کاری ۵۰ وات بود و هر دقیقه ۲۵ وات به بار کار اضافه می شد تا ضربان قلب به ۶۰ درصد ضربان قلب بیشینه برسد، سپس فعالیت را انجام دادند که شامل سه سری و هر سری شامل سه تکرار بود. در هر سری تکرارها شامل یک فعالیت ۶۰ ثانیه ای بر روی دوچرخه با شدت ۸۵-۸۰ درصد ضربان قلب بیشینه و یک استراحت ۶۰ ثانیه ای فعال برای برگشت ضربان قلب به ۶۰ درصد ضربان قلب بیشینه بصورت کاهش بار کاری با رکاب زدن روی



□ قبل از فعالیت ■ بعد از فعالیت ■ ۱ ساعت بعد از فعالیت

نمودار ۱. تغییرات IL-6 در پاسخ به فعالیت ایستروال شدید در شرایط هایپوکسی و نورموکسی



□ قبل از فعالیت ■ بعد از فعالیت ■ ۱ ساعت بعد از فعالیت

نمودار ۲. تغییرات IL-10 در پاسخ به فعالیت ایستروال شدید در شرایط هایپوکسی و نورموکسی

بحث

هایپوکسی کوتاه‌مدت و بلندمدت بصورت مطلق (هایپوکسی کوتاه‌مدت = $145W$ ، VO_{2max} ۵۴ درصد و هایپوکسی بلندمدت = $154W$ ، VO_{2max} ۵۹ درصد) و در شدت نسبی (هایپوکسی کوتاه‌مدت = $130W$ ، VO_{2max} ۴۶ درصد و هایپوکسی بلندمدت = $120W$ ، VO_{2max} ۴۴ درصد) (۲۱)، و Hagobian و همکاران در ارتفاع ۴۳۰۰ متر در اثر فعالیت ورزشی با شدت VO_{2peak} ۵۵ درصد و با مصرف آنتی‌اکسیدان (۱۸)، افزایش معنی دار IL-6 در اثر فعالیت ورزشی و عدم تفاوت سطح آن را در شرایط هایپوکسی و نورموکسی گزارش نموده‌اند. این یافته‌ها با یافته تحقیق حاضر همخوانی دارد. در واقع نتیجه تحقیق حاضر مخالف یافته‌های Mazzeo و همکاران و Jong و همکاران می‌باشد (۲۲ و ۱۷). که به

تحقیق حاضر نشان داد فعالیت ایستروال شدید در شرایط هایپوکسی روی دوچرخه ارگومتر منجر به افزایش معنی‌داری در میزان IL-6 نسبت به فعالیت در شرایط نورموکسی نشد. با وجود اینکه فعالیت موجب افزایش معنی‌داری در میزان IL-6 شد، اما این افزایش در شرایط هایپوکسی و نورموکسی با هم تفاوت معنی‌داری نداشت. Svendsen و همکاران در یک فعالیت دوچرخه‌سواری ۷۵ دقیقه‌ای با ۷۵ درصد VO_{2max} ویژه ارتفاع در شرایط نورموکسی و هایپوکسی هایپوباریک معادل ۲۰۰۰ متر بالاتر از سطح دریا (۱۹) و Khameneh و همکاران در ۴ فعالیت ۳۰ دقیقه‌ای با شدت ۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه در ۴ شرایط هایپوکسی و نورموکسی (۲۰)، Carsten و همکاران در ۶۰ دقیقه فعالیت با دوچرخه ارگومتر در سطح دریا ($154W$ ، VO_{2max} ۴۵ درصد) و در شرایط

هوازی بصورت ۳۰ دقیقه دویدن با ۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه را در ۴ وضعیت نورموکسی و هایپوکسی (در ارتفاعهای ۲۷۵۰ متر، ۳۲۵۰ متر و ۳۷۵۰ متر) انجام دادند (۱۷). که موجب کاهش سطح IL-۱۰ در شرایط نورموکسی و در ارتفاع ۳۲۵۰ متر شد. که به نظر می‌رسد نوع فعالیت در این تحقیق موجب کاهش سطح IL-۱۰ شده است. که برای ویژگی‌های تنظیمی بر التهاب مفید است. اهمیت فعالیت شدید برای تولید الگوهای ضد التهابی نیز تایید شده است (۲۶)

قرار گرفتن در معرض ارتفاع بصورت کوتاه مدت پارامترهای ایمونولوژیکی را تغییر می‌دهد (۲۷). لنفوسیت‌ها و فاگوسیت‌ها از طریق آزادسازی سایتوکاین‌ها به هایپوکسی هایپوباریک سازگاری نشان می‌دهند (۲۸). یکی از سازوکارهایی که ممکن است موجب افزایش سطح IL-۱۰ باشد در آبشار سایتوکاینی ابتدا IL-۱ β و TNF- α از محل التهاب آزاد و سپس IL-۶ و IL-۱۰ آزاد می‌شوند که اثر ضد التهابی IL-۱۰ باعث مهار IL-۱ β و TNF- α می‌شود (۱۷). و همچنین در تحقیق استینسبرگ و همکاران (۲۰۰۳) (۲۹) نشان داده شده است که انقباض عضله اسکلتی در طول فعالیت بدنی موجب افزایش سطح IL-6 پلاسما می‌شود که باعث افزایش سطح‌های دو سایتوکاین ضد التهابی IL-۱۰ و IL-۱ α و کورتیزول می‌شود که باعث تاخیر در افزایش CRP (C-reactive protein) پلاسما می‌شود. بعلاوه نشان داده شده است که IL-۱۰ از لنفوسیت‌های T نوع ۲ ترشح می‌شود که برای افزایش ایمنی خون لازم می‌باشد. که می‌تواند مانع تولید سایتوکاین‌های تولیدی از لنفوسیت‌های T نوع ۱ شود. در نتیجه فعالیت بدنی در تعادل سایتوکاین‌های تولیدی از لنفوسیت‌های T نوع ۱ و ۲ موثر می‌باشد (۳۰). ورزش و هیپوکسی دو عامل متفاوت استرس‌زای مستقل برای سیستم ایمنی بدن هستند. پیشنهاد شده است که ورزش در شرایط هیپوکسی باعث استرس ایمنی برجسته‌تر از ورزش در شرایط سطح دریا می‌شود. علاوه بر ارتفاع بالا، ورزش یک تاثیر شدید و گذرا بر سیستم ایمنی برای هماهنگی ایمونولوژیک، سوخت و ساز بدن و پاسخ سمپاتو آدرنال به حفظ هموستاز دارد (۱۶).

نتیجه‌گیری

افزایش سایتوکاین‌های پیش التهابی با افزایش مارکرهای التهابی و همچنین بیماری‌های مزمن قلبی عروقی و متابولیک همراه است. واکنش‌های التهابی ممکن است موجب آپوپتوز یا نکروز سلول‌های عضله توسط ماکروفاژها یا سایتوکاین‌های التهابی شود (۲۴). و با توجه به افزایش سطح سایتوکاین‌ها در طول هایپوکسی کوتاه مدت و اینکه ورزشکاران ممکن است در ارتفاع پایین زندگی و تمرین کنند و در ارتفاع زیاد در شرایط رقابتی قرار بگیرند احتمال افزایش خطر التهاب وجود دارد که می‌تواند باعث اختلال در

نظر می‌سد تفاوت این دو تحقیق با تحقیق حاضر مربوط به نوع آزمودنی، شدت، نوع فعالیت، و مدت فعالیت در ارتفاع باشد. در تحقیق Mazzeo و همکاران آزمودنی‌ها به مدت ۱۲ روز متوالی در ارتفاع ۴۳۰۰ ماندند و عصب آلفا-آدرنژیک آنها نیز مسدود شده بود و با شدت VO_{2max} ۵۰ درصد به مدت ۵۰ دقیقه روی دوچرخه فعالیت کردند. و در تحقیق Jong و همکاران همچنین یک گروه از آزمودنی‌ها در معرض O_2 ۱۲ درصد برای یک ساعت در روز، ۵ روز در هفته، برای ۸ هفته در چادر هایپوکسی تا واماندگی بر روی دوچرخه فعالیت داشتند (۲۲ و ۱۷). در حالی که در تحقیق حاضر از ارتفاع شبیه سازی شده ۲۷۵۰ متری (O_2 ۱۵ درصد) استفاده شد و آزمودنی‌ها تمرین کرده بودند و یک جلسه فعالیت در شرایط هایپوکسی با شدت HRmax ۸۵-۸۰ درصد داشتند و هیچکدام از آزمودنی‌ها به واماندگی نرسیدند. چون در تحقیقات پیشین نشان داده شده است که میزان ارتفاع و مدت ماندگاری در ارتفاع و شدت و نوع فعالیت ورزشی عامل مهمی در پاسخ سایتوکاین‌ها می‌باشد و چون در تحقیق حاضر مدت ماندگاری در ارتفاع همچنین میزان ارتفاع کمتر از این دو تحقیق می‌باشد شاید به همین دلیل تفاوت معنی‌داری در میزان تولید IL-۶ در تحقیق حاضر بین دو محیط مشاهده نشد.

تحقیقات بسیاری اثر انواع و شدت‌های مختلف فعالیت بدنی را بر غلظت پلاسمایی IL-۶ بررسی کرده‌اند. ترکیبی از نوع، شدت و مدت فعالیت بدنی میزان افزایش IL-۶ پلاسمایی ناشی از فعالیت بدنی را تعیین می‌کند. شواهد هم نشان داد که آسیب عضلانی برای افزایش IL-۶ در طول ورزش مورد نیاز نیست (۱۰). در مقابل، پاسخ IL-۶ به شدت ورزش حساس است و بطور غیر مستقیم با حجم عضله درگیر در فعالیت انقباضی مرتبط است (۲۳). بعلاوه گفته شده است که تا ۵۰ درصد تغییرات IL-۶ با فعالیت بدنی با مدت ورزش توضیح داده می‌شود (۱۰).

همچنین در تحقیقات پیشین نشان داده شده است که سطح سایتوکاینی پایین‌تر ممکن است نشان‌دهنده فشار متابولیکی کمتر باشد که فرض شده میان هموستاز گلوکز و افزایش IL-۶ اثر فعالیت بدنی ارتباط وجود دارد. گفته شده که در دسترس بودن گلوکز برای عضلات فعال موجب کاهش در افزایش IL-۶ پلاسما می‌شود. بنابراین دلیل افزایش IL-۶ اثر فعالیت بدنی را نمی‌توان مرتبط با آسیب عضله یا التهاب دانست بلکه به محتوای گلیکوژن عضله قبل از فعالیت بدنی نیز وابسته می‌باشد (۲۴، ۲۵).

تحقیق حاضر نشان داد فعالیت اینتروال شدید در شرایط هایپوکسی روی دوچرخه ارگومتر منجر به افزایش معنی‌داری در میزان IL-۱۰ نسبت به فعالیت در شرایط نورموکسی شد. نتایج این تحقیق با یافته‌های Jong و همکاران، همسو و با تحقیق Khameneh و همکاران مخالف می‌باشد (۱۷ و ۲۰). در تحقیقی که Khameneh و همکاران انجام دادند آزمودنی‌ها ۴ جلسه فعالیت

سیستم ایمنی شود، نظارت بر شدت فعالیت ورزشی در شرایط هایپوکسی اهمیت می‌یابد و می‌توان گفت که افزایش IL-6 و IL-10 در حین و پس از فعالیت بدنی با شدت مناسب ممکن است ساز و کاری موثر در جلوگیری از بیماری‌های مزمن و اختلالات التهابی همراه فعالیت بدنی در انسان باشد.

قدردانی

از کلیه آزمودنی‌های حاضر در این پژوهش که ما را در انجام این مطالعه یاری رساندند، کمال سپاسگزاری را داریم. این مقاله بخشی از پایان نامه با شماره ۴۵۸۱/۲۰۰۴ د مورخ ۹۲/۸/۷ می‌باشد.

ملاحظات اخلاقی

در این تحقیق آزمودنی‌ها فرم رضایت‌نامه را قبل از انجام پروتکل تکمیل نمودند.

منابع مالی

این تحقیق با هزینه شخصی نویسندگان انجام شده است.

منافع متقابل

نویسندگان این مقاله منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مؤلفان

ز.پ، خ.ا 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.

References

- Pedersen A, Klarlund B, Hoffman-Goetz L. "Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation." *Physiological reviews* 2000; **80**(3): 1055-1081.
- Nieman D C. "Does Exercise Alter Immune Function and Respiratory Infections?" *President's Council on Physical Fitness and Sports Research Digest* 2001; **36**(8): 78-84. doi: 10.1037/e603492007-001
- Nieman D C. "Immune response to heavy exertion." *Journal of applied physiology* 1997; **82**(5): 1385-1394. doi: 10.4135/9781412994149.n129
- Gleeson M, Nieman D C, Pedersen B K. "Exercise, nutrition and immune function." *Journal of sports sciences* 2004; **22**(1): 115-125. doi: 10.1080/0264041031000140590
- Finaud J. "Antioxidant status and oxidative stress in professional rugby players: evolution throughout a season." *International journal of sports medicine* 2006; **27**(02): 87-93. doi: 10.1055/s-2005-837489
- Sylvia L, Margolin K. "Cytokines in cancer immunotherapy." *Cancers* 2011; **3**(4): 3856-3893. doi: 10.3390/cancers3043856
- Jonathan P, Ken Nosaka K, Suzuki K. "Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans." *Exerc Immunol Rev* 2005; **11**: 64-85.
- Daniella M, Tyrrell R M, Thompson D. "Acute moderate-intensity exercise in middle-aged men has neither an anti-nor proinflammatory effect." *Journal of applied physiology* 2008; **105**(1): 260-265. doi: 10.1152/jappphysiol.00096.2008
- Petersen A, Pedersen B. "The role of IL-6 in mediating the anti-inflammatory." *J Physiol Pharmacol* 2006; **57**: 43-51.
- Bente K P, Febbraio M A. "Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6." *Physiological reviews* 2008; **88**(4): 1379-1406. doi: 10.1152/physrev.90100.2007
- Pedersen A, Klarlund B. "Role of myokines in exercise and metabolism." *Journal of applied physiology* 2007; **103**(3): 1093-1098. doi: 10.1152/jappphysiol.00080.2007
- Pedersen A, Klarlund B. "Muscles and their myokines." *Journal of Experimental Biology* 2011; **214**(2): 337-346. doi: 10.1242/jeb.048074
- Ramiro Barcos N. "Physical exercise improves plasmatic levels of IL-10, left ventricular end-diastolic pressure, and muscle lipid peroxidation in chronic heart failure rats." *Journal of applied physiology* 2008; **104**(6): 1641-1647. doi: 10.1152/jappphysiol.00062.2008
- Marcia A Ch. "Influence of carbohydrate ingestion on cytokine responses following acute resistance exercise." *International journal of sport nutrition and exercise metabolism* 2003; **13**(4): 454-465. doi: 10.1123/ijsnem.13.4.454
- Gordon F. "Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress following high-intensity interval exercise." *Journal of Applied Physiology* 2011; **110**(3): 730-737. doi: 10.1152/jappphysiol.00575.2010
- Robert M S. "Altitude, exercise and immune function." *Exerc Immunol Rev* 2005; **11**(6): 6-16.
- Jong-Shyan W. "Chronic intermittent hypoxia modulates eosinophil-and neutrophil-platelet aggregation and inflammatory cytokine secretion caused by strenuous exercise in men." *Journal of Applied Physiology* 2007; **103**(1): 305-314. doi: 10.1152/jappphysiol.00226.2007

18. Hagobian T A. "Cytokine response at high altitude: effects of exercise and antioxidants at 4300 m." *Medicine and science in sports and exercise* 2006; **38**(2): 276. PMID: 16531896
19. Svendsen Ida S, Erland H, Gleeson M. "Effect of acute exercise and hypoxia on markers of systemic and mucosal immunity." *European journal of applied physiology* 2016; **116**(6): 1219-1229. doi: 10.1007/s00421-016-3380-4
20. Khameneh S S, Alinejad H A, Kohanpour M A, Peeri M, Jafarabadi MA, Mirsepasi M, et al. Effect of Aerobic Activities in Hypoxia Situations on Interleukin-6 and Interleukin-10 Serums of Active Young Men. *Middle-East Journal of Scientific Research* 2012; **12**(8): 1136-1142. doi: 10.5829/idosi.mejsr.2012.12.8.7176
21. Carsten L, Steensberg A. "Interleukin-6 response to exercise during acute and chronic hypoxia." *European journal of applied physiology* 2004; **91**(1): 88-93. doi: 10.1007/s00421-003-0935-y
22. Mazzeo Robert S. "Interleukin-6 response to exercise and high-altitude exposure: influence of α -adrenergic blockade." *Journal of Applied Physiology* 2001; **91**(5): 2143-2149. PMID: 11641355
23. Fischer Christian P. "Supplementation with vitamins C and E inhibits the release of interleukin-6 from contracting human skeletal muscle." *The Journal of physiology* 2004; **558**(2): 633-645. doi: 10.1113/jphysiol.2004.066779
24. Steinacker Jürgen M. "New aspects of the hormone and cytokine response to training." *European journal of applied physiology* 2004; **91**(4): 382-391. doi: 10.1007/s00421-003-0960-x
25. Nehlsen-Cannarella S L. "Carbohydrate and the cytokine response to 2.5 h of running." *Journal of Applied Physiology* 1997; **82**(5): 1662-1667. PMID: 9134917
26. Wang J. "Effect of exercise training intensity on murine T-regulatory cells and vaccination response." *Scandinavian journal of medicine & science in sports* 2012; **22**(5): 643-652. doi: 10.1111/j.1600-0838.2010.01288.x
27. Lemos De A, Valdir K. "Can high altitude influence cytokines and sleep?" *Mediators of inflammation* 2013; **2013**: 1-8. doi: 10.1155/2013/279365
28. Monica F. "Modulation of immune response by the acute and chronic exposure to high altitude." *Med Sci Sports Exerc* 2005; **37**(5): 768-774. doi: 10.1249/01.mss.0000162688.54089.ce
29. Steensberg A. "IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans." *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2003; **285**(2): E433-E437. doi: 10.1152/ajpendo.00074.2003
30. Michael G. "Immune function in sport and exercise." *Journal of applied physiology* 2007; **103**(2): 693-699. doi: 10.1152/japplphysiol.00008.2007

Original Article

The protective effect of Hepatitis B vaccine in 12 to 24 months old vaccinated children referred to Tabriz children Hospital

Asemeh Teymouri Bilesuar¹ , CHangiz Ahmadizadeh^{1*} , SHahram Abdoli Oskouie²

¹Department of Microbiology, Islamic Azad University of Ahar, Ahar, Iran.

²Department of Pediatric Infectious Diseases, Children Health Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Iran.

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

Received: 31 December 2016 Accepted: 9 March 2017 First Published online: 17 January 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):36-41

Abstract

Background: Vaccination is one of the most effective methods of prevention of hepatitis B throughout the world. The aim of this study was to check the level of HBsAb after vaccination in vaccinated 12 to 24 months children referred to Children's hospital in Tabriz.

Methods: This descriptive, cross-sectional study was carried out on 200 children 12 to 24 months randomly. The questionnaires were filled out through interviews with children, for data collection: and child's characteristics nutrition, were recorded. 5ml blood sample were taken, then antiHBs experiment was done quantitatively with the ELISA method, manufactured And values above 10IU/ml were considered as the optimal safety level. Data were analyzed using statistical software spss-17 and t-test and Pearson correlation coefficient.

Results: 93.5% of studied children over 10 Iu/ml Anti-HBs and showed respond to vaccination. Considering antibody titer There was not statistically significant with sex of children and weight gestational age of the mothers, type of feeding (breast milk and formula), gestational age, birth weight, Type of labor ($p>0.05$). Anti-HBsAb titers were related to the age of children ($p=0.001$). The immunity level decreased with increasing age. 6.5% of children were not safe.

Conclusion: This study showed that safety caused by total injection of hepatitis B vaccine is desirable according to National vaccination program.

Keyword: Hepatitis B virus -vaccination -12 to 24 months children -HBsAb.

How to cite this article: Teymouri Bilesuar A, Ahmadizadeh CH, Abdoli Oskouie SH. [The protective effect of Hepatitis B vaccine in 12 to 24 months old vaccinated children referred to Tabriz children Hospital]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March;40(6): 36-41. Persian.

مقاله پژوهشی

اثر حفاظتی واکسن هپاتیت B در کودکان واکسینه شده ۱۲ تا ۲۴ ماهه مراجعه کننده به بیمارستان کودکان تبریز

عاصمه تیموری بیله سوار^۱، چنگیز احمدی زاده^{۱*}، شهرام عبدلی اسکویی^۲^۱گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران.^۲گروه بیماریهای عفونی کودکان، مرکز تحقیقات سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران.

*نویسنده مسئول؛ ایمیل: dr_Ahmadizade@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۱ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۹ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ بهمن و اسفند؛ ۴۰(۶): ۳۶-۴۱

چکیده

زمینه: واکسیناسیون یکی از مؤثرترین روش های پیشگیری از بیماری هپاتیت B در سرتاسر دنیا می باشد. هدف از این مطالعه بررسی سطح HBsAb بعد از واکسیناسیون در کودکان واکسینه شده ۱۲ تا ۲۴ ماهه مراجعه کننده به بیمارستان کودکان شهر تبریز است.

روش کار: این مطالعه توصیفی- مقطعی روی ۲۰۰ کودک ۱۲ تا ۲۴ ماهه به صورت کاملاً تصادفی انجام گردید. جهت گردآوری داده ها، پرسشنامه ها از طریق مصاحبه با والدین تکمیل شدند و مشخصات کودک ثبت گردید. از هر کودک ۵ سی سی خون گرفته شد، سپس antiHBs با روش الایزا و به طور کمی اندازه گیری و مقادیر بالاتر از ۱۰ IU/ml به عنوان سطح ایمنی مطلوب در نظر گرفته شد. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-۱۷ و آزمون آماری t و ضریب همبستگی پیرسون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: در افراد مورد مطالعه ۹۳/۵٪ بالای ۱۰ واحد بین المللی antiHBs داشتند و پاسخ به واکسیناسیون را نشان می دادند. ارتباط معنی داری بین عیار آنتی بادی با جنسیت، وزن کودک، سن مادر موقع زایمان، نوع تغذیه (شیر مادر و شیر خشک)، سن حاملگی، وزن هنگام تولد و نوع زایمان مادر وجود نداشت ($P>0/05$). بین میزان ایمن بودن با سن کودکان رابطه آماری معنی دار برقرار بود ($P=0/001$). با افزایش سن کودکان میزان ایمنی آنها کاهش داشت. ۶/۵٪ کودکان از ایمنی برخوردار نبودند.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد که ایمنی ایجاد شده در اثر تزریق کامل واکسن هپاتیت B طبق برنامه کشوری مطلوب می باشد.

کلید واژه ها: ویروس هپاتیت B، واکسیناسیون، کودکان ۱۲ تا ۲۴ ماهه، آنتی بادی ضد HBs.

نحوه استناد به این مقاله: تیموری بیله سوار ع، احمدی زاده چ، عبدلی اسکویی ش. اثر حفاظتی واکسن هپاتیت B در کودکان واکسینه شده ۱۲ تا ۲۴ ماهه مراجعه کننده به بیمارستان کودکان تبریز. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۳۶-۴۱

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

اختلالات نقص ایمنی و ناکافی بودن اطلاعات موجود در مورد سلامت کودک. از کودکان ۵ سی سی خون گرفته شد و پس از سانتریفوژ، سرم آن به آزمایشگاه بیمارستان کودکان منتقل و با روش الایزا آنتی بادی تیترآز شد. در نگهداری و انتقال نمونه سرم شرایط لازم رعایت شده است. تیتر آنتی بادی ضد HBsAg بطور کمی با استفاده از کیت ساخت شرکت DIA.PRO ایتالیا اندازه گیری شد. تیتر آنتی بادی بالاتر از ۱۰ واحد بین المللی مثبت در نظر گرفته شد و نشان دهنده ایمنی کودک بود. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS - ۱۷ و با توجه به اینکه نتایج توزیع نرمال داشتند، برای مقایسه نتایج از آزمون آماری t-test و برای تعیین همبستگی بین آنها از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد و $P < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

وجود Anti-HBs در ۲۰۰ کودک ۱۲ تا ۲۴ ماهه شامل ۱۱۲ پسر (۵۶٪) و ۸۸ دختر (۴۴٪) مورد مطالعه قرار گرفت. از این تعداد ۱۸۷ نفر (۹۳/۵٪) نسبت به ویروس هپاتیت B ایمن، یعنی دارای تیتر آنتی بادی بالاتر از ۱۰ واحد بین المللی بودند و ۱۳ نفر (۶/۵٪) از این کودکان ایمن نبودند. از ۱۳ کودک، ۴ نفر دختر و ۹ نفر پسر بودند جدول ۱.

اختلاف بین میزان آنتی بادی و جنس معنی دار نبود ($P > 0/05$) جدول ۲. ۱۵۷ نفر از شیر مادر (۷۸/۵٪) و ۴۳ نفر از شیر خشک (۲۱/۵٪) استفاده می کردند. بین سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B و نوع تغذیه رابطه آماری معنی داری یافت نشد ($P > 0/05$) و سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B در نوزادان شیر خشک و شیر مادر برابر می باشد جدول ۲.

جدول ۱: توزیع فراوانی سطح سرمی آنتی بادی ضد هپاتیت B (Anti-HBs)

سطح Anti-HBs (واحد در لیتر)	دختر	پسر	تعداد	درصد
۰-۱۰	۴	۹	۱۳	۶/۵
۱۰-۱۰۰	۴۹	۵۵	۱۰۴	۵۲
بالاتر از ۱۰۰	۳۵	۴۸	۸۳	۴۱/۵
			۲۰۰	۱۰۰

جدول ۲: نتایج آزمون T دو نمونه مستقل سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B برحسب جنس، تغذیه و زایمان

جنس	سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B	میانگین	انحراف معیار	آزمون آماری
پسر		۴/۲۳	۱/۴۶	$p = 0/907$
دختر		۴/۲۵	۱/۵۳	
شیرمادر		۴/۲۷	۱/۴۲	$p = 0/613$
شیرخشک		۴/۱۴	۱/۷۱	
زایمان		۴/۱۳	۱/۵۷	$p = 0/140$
طبیعی		۴/۴۶	۱/۲۹	

ویروس هپاتیت B عامل مهم ایجاد بیماری های کبد و ازجمله سرطان کبد در انسان می باشد (۱). در حال حاضر بیش از ۵۰۰ میلیون نفر در سراسر جهان به ویروس هپاتیت B مبتلا هستند و سالانه یک میلیون نفر به علت عوارض آن می میرند (۳،۲). این بیماری سردهسته علل هپاتیت مزمن، سیروز و کارسینوم هپاتوسلولار است (۲). سه راه عمده انتقال هپاتیت B عبارتند از: تماس با خون و فرآورده های خونی آلوده، انتقال از مادر به جنین، تماس جنسی (۴). بر اساس مطالعات انجام شده ایران جزء کشورهای با شیوع متوسط محسوب می گردد (۷). تعداد حاملین این ویروس در ایران به طور متوسط حدود ۳٪ می باشد (۵). واکسیناسیون همگانی در برابر HBV مؤثرترین راه پیشگیری از عفونت HBV می باشد و به صورت روتین برای نوزادان و گروه های پرخطر از سال ۱۹۹۲ در ایران در نظر گرفته شده است (۷). بر اساس برنامه ملی واکسیناسیون ایران دوز اول واکسن HBV در عرض ۲۴ ساعت اول تولد و دوزهای بعدی در سنین ۲ و ۶ ماهگی تجویز می گردد (۱۲،۱۱). کودکان نارس با وزن تولد زیر ۲ کیلوگرم یک دوز اضافی در یک ماهگی دریافت می کنند (۹). در حال حاضر درمان قاطعی برای عفونت حاد یا مزمن هپاتیت B وجود ندارد ولی واکسیناسیون در نوزادان می تواند از شیوع این بیماری بکاهد (۱۲). واکسیناسیون هپاتیت B در ۸۵ تا ۹۵ درصد کودکان ایمنی ایجاد می کند (۸،۱۰،۱۳). ولی عواملی می تواند روی سطح ایمنی ایجاد شده و طول مدت آن تأثیر داشته باشد (۱۴،۱۵). ملاک ایجاد ایمنی مناسب در واکسیناسیون هپاتیت B ایجاد سطح مناسب HBsAb در سرم است که هر چه غلظت آنتی بادی تولیدی بیشتر باشد ایمنی حاصله مناسب تر است لذا بررسی سطح ایمنی ایجاد شده بعد از واکسیناسیون جهت بررسی کارایی واکسیناسیون لازم است (۱۲). هدف از این مطالعه بررسی سطح HBsAb بعد از واکسیناسیون در کودکان واکسینه شده ۱۲ تا ۲۴ ماهه مراجعه کننده به بیمارستان کودکان شهر تبریز است.

روش کار

این مطالعه توصیفی - مقطعی روی ۲۰۰ کودک در گروه سنی ۱۲-۲۴ ماهه مراجعه کننده به بیمارستان کودکان تبریز در سال ۱۳۹۴ انجام شد. کسب رضایت سازمانی از مسئولین ذیربط و رضایت شفاهی از اولیای کودکان مراجعه کننده برای شروع پژوهش، جلب اطمینان افراد مورد مطالعه که تمامی اطلاعات آنها به صورت محرمانه باقی می ماند انجام یافت. مشخصات کودک و اطلاعات مورد نیاز مانند (سن، جنس، وزن، تغذیه کودک، سن مادر موقع زایمان، سن حاملگی و نوع زایمان) با توجه به اظهارات والدین یا کارت رشد کودک، ثبت گردید. شرایط خروج از مطالعه عبارت بودند از: مثبت بودن HBsAg، ناکافی بودن نمونه دریافتی،

در مشهد میزان ایمنی بعد از واکسیناسیون هپاتیت B در کودکان ۸۱٪ بود (۱۶) و در مطالعه Garcia Liop و همکاران در اسپانیا ۵ سال بعد از اولین دوز واکسن هپاتیت ۷۵٪، بعد از ۷-۶ سال ۷۰/۶٪ کودکان از ایمنی برخوردار بودند (۲۴). Gold و همکاران گزارش کردند که ۷۷/۱٪ کودکان، ۸ سال بعد از واکسیناسیون سطوح قابل اندازه گیری آنتی بادی (بیش از ۱۰ mlu/ml) را دارا بودند که در ۴۸/۴٪ آنها سطوح بالای آنتی بادی (بیش از ۱۰۰ mlu/ml) یافت گردید و بین تیترا HBsAb و سن حاملگی و وزن هنگام پیدایش با یافته مطالعه ما همخوانی دارد (۱۷). در مطالعه Sood و همکاران پاسخ خوب آنتی بادی (تیترا $>100 \text{ mlu/ml}$) با سن حاملگی ارتباط داشت اما در مطالعه ما هیچگونه ارتباطی بین میزان موارد مثبت شدن تیترا آنتی بادی با وزن تولد و سن حاملگی مشاهده نگردید (۱۸). در مطالعه Whittle در لندن اثر بخشی واکسن هپاتیت B به میزان ۸۰٪ محاسبه گردید (۲۰). و در مطالعه Sallam در یمن این میزان ۸۳/۵٪ بود (۲۱). در مطالعه صالحی در زاهدان میزان مثبت شدن Anti-HBs، ۷۸/۴٪ بود (۲۳). و در مطالعه Afsharian و همکاران در کرمانشاه پاسخ ایمنی به واکسن هپاتیت B حدود ۶۹/۳٪ بود. همچنین بین پاسخ ایمنی به واکسن و متغیر سن از نظر آماری رابطه معنادار وجود نداشت که با مطالعه حاضر همخوانی ندارد (۲). در مطالعه Zahedpasha و همکاران در بابل تفاوتی از نظر پاسخ آنتی بادی به واکسن هپاتیت B در گروه نارس و رسیده مشاهده نشد ولی در کل نوزادان، متوسط تیترا آنتی بادی در نوزادان پسر بالاتر از دخترها بود که این تفاوت نیز از نظر آماری معنی دار بود (۲۵). در مطالعه انجام شده توسط Rafiee و همکاران در تبریز، تفاوت معنی داری از نظر میزان مثبت شدن تیترا آنتی بادی در نوزادان نارس و رسیده مشاهده نشد ولی اختلاف نسبتاً معنی دار وزن موقع تولد و تیترا آنتی بادی در یک سالگی وجود داشت (۲۷). در مطالعه Mostafavizadeh و همکاران در شهرکرد، بعد از یک دوره ۶-۵ ساله، ۳۶٪ کودکان تیترا آنتی بادی در حد حفاظت کننده علیه بیماری هپاتیت B ندارند همچنین در بررسی تفکیکی عواملی مانند جنس، دفعات تزریق واکسن در نتیجه دخالت دارند که با مطالعه ما همخوانی ندارد (۲۹). بر اساس یافته ها بین سن کودکان و میزان ایمنی آنها رابطه وجود داشت یعنی با افزایش سن در کودکان مورد مطالعه میزان ایمنی آنها پایین آمده بود. در مطالعه ای که توسط Esmaeili و همکاران انجام شد میزان تولید HBsAb در کودکان با وزن تولد کم، پایین تر از کودکان دارای وزن تولد طبیعی بود؛ همچنین با افزایش سن در هر دو گروه خصوصاً در گروه کودکان طبیعی، تیتراژ آنتی بادی کاهش نشان داده است که با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۹). در مطالعه Ahmadi و همکاران در بندرعباس عیار پادتن در محدوده سنی ۱۵-۱۲ ماهگی بیشتر از محدوده سنی ۲۴-۲۱ ماهگی بود. ۴/۳۴٪ از کودکان گروه اول و ۲۰/۸٪ از

بیشترین نوع زایمان با تعداد ۱۳۳ نفر (۶۶/۵٪) با روش سزارین بود. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود، بین نوع زایمان با سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B رابطه معنی داری وجود ندارد. ۷ کودک (۳/۵٪) قبل از هفته ۳۳ حاملگی و ۱۹۳ کودک (۹۶/۵٪) بعد از هفته ۳۴ حاملگی بدنیا آمده بودند. نتایج آزمون همبستگی پیرسون بیانگر آن است، رابطه معنی داری بین سن حاملگی با سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B وجود ندارد و همبستگی خیلی ضعیفی وجود دارد جدول ۳. از این تعداد، ۸۰ نفر (۴۰٪) حین خونگیری وزن کمتر از ۱۰ کیلوگرم و ۱۲۰ نفر (۶۰٪) بین ۱۵-۱۰ کیلوگرم وزن داشتند. بین وزن کودکان با سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B رابطه معنی داری وجود ندارد جدول ۳. اختلاف معنی داری بین سن مادر موقع زایمان و وزن کودک در بدو تولد با سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B وجود نداشت ($P > 0.05$) جدول ۳. ۱۰۵ نفر در بازه سنی ۱۷-۱۲ ماه (۵۲/۵٪) و ۹۵ نفر (۴۷/۵٪) در بازه سنی ۲۴-۱۸ ماه قرار داشتند. نتایج آزمون ضریب همبستگی پیرسون بیانگر آن است که با اطمینان ۹۹ درصد و سطح خطای کمتر از ۱ درصد رابطه معناداری بین سن کودکان مورد مطالعه با سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B وجود دارد ($P = 0.001$) جدول ۴.

جدول ۳: نتایج آزمون پیرسون بین متغیرهای مورد مطالعه با سطح Anti-HBs

آزمون آماری		
سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B	ضریب همبستگی پیرسون	P
وزن کودک	۰/۱۰۳	۰/۱۴۶
سن مادر موقع زایمان	۰/۰۱۲	۰/۸۷۱
سن حاملگی	۰/۰۱۹	۰/۸۸۶
وزن کودک بدو تولد	۰/۱۳۱	۰/۰۶۵

جدول ۴: نتایج آزمون پیرسون بین سن کودکان با سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B

ضریب همبستگی پیرسون	سطح آنتی بادی ضد هپاتیت B
۰/۲۷۳**	
P	۰/۰۰۱

**سطح معناداری یک درصد

بحث

بر اساس یافته های این پژوهش در ۶/۵٪ کودکان سطح آنتی بادی هپاتیت B به پایین تر از حد محافظتی افت پیدا کرده و این کودکان از ایمنی کافی برخوردار نبودند در حالیکه درصد بالایی از کودکان در این سنین دارای ایمنی بودند بین میزان ایمن بودن با سن کودکان رابطه آماری معنی داری وجود داشت و میزان ایمنی با جنسیت، وزن، تغذیه، سن حاملگی، زایمان، سن مادر موقع زایمان ارتباط آماری معنی دار نداشت. در مطالعات دیگر نیز سطح ایمنی اکثر کودکان علیه هپاتیت B در این سنین نسبتاً بالا گزارش شده است. از جمله در مطالعه Fethulleh poor و همکاران در سندج ۹۳/۳٪ از کودکان مورد بررسی ایمن بودند (۱۲). مطالعه AzarKar

پیشنهاد می‌شود کودکانی که به واکسن پاسخ نداده‌اند، از نظر سیستم ایمنی و زمینه ژنتیک بررسی شوند و واکسیناسیون مجدد سه نوبتی را دریافت کرده و مجدداً تیتراژ آنتی‌بادی در آنها مورد بررسی قرار گیرد. همچنین شیوه تلقیح واکسن، شرایط نگهداری و طریقه حمل و نقل آن کنترل شود و مطالعات دیگر با تعداد نمونه بیشتری انجام پذیرد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که ایمنی ایجاد شده در اثر تزریق کامل واکسن هپاتیت B طبق برنامه کشوری مطلوب می‌باشد.

قدردانی

بدینوسیله از زحمات ریاست محترم مرکز آموزشی درمانی کودکان شهر تبریز و معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر صمیمانه سپاسگزاری می‌شود. همچنین از کلیه پرسنل و کارکنان محترم آزمایشگاه بیمارستان کودکان تبریز و نمونه‌گیران و والدین کودکان مورد مطالعه و تمامی کسانی که در طول اجرای این پژوهش ما را یاری کردند تقدیر و تشکر می‌نمایم. شایان ذکر است که این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد خانم عاصمه تیموری با کد پایان نامه ۲۲۰۳۰۵۰۷۹۳۱۰۲۱، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر می‌باشد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه با اخذ رضایت نامه از والدین و رعایت کلیه موازین اخلاق پزشکی و امانت داری در اطلاعات بیماران انجام شده است.

منابع مالی

حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی صورت پذیرفته است.

مشارکت مؤلفان

ع، ت، ج، ا. و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشت.

منافع متقابل

منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله وجود ندارد.

کودکان گروه دوم عیار پادتن کمتر از ۱۰ mIU/ml داشتند، عیار پادتن با افزایش سن کاهش می‌یابد و با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۲۲). در مطالعه Izadi و همکاران در تهران، سطوح آنتی‌بادی حفاظتی در ۶۵٪ کودکان یک ساله واکسینه یافت شد که به ۳۰٪، ۲۹٪ و ۲۴٪ به ترتیب در ۵، ۱۰ و ۱۵ سال بعد از واکسیناسیون رسید. میزان آنتی‌بادی حفاظتی بطور معنی‌داری با افزایش سن به جهت افت تیتراژ AntiHBs کاهش یافته بود (۱۱). در مطالعه رضایی در سمنان سطوح آنتی‌بادی پس از واکسیناسیون به ترتیب در ۸٪ از کودکان کمتر از ۵ سال، ۷۸٪ بین ۵ تا ۱۰ سال و ۷۴٪ در بیشتر از ۱۰ سال کاهش یافته است (۲۶). مطالعه Rafizadeh و همکاران در زنجان نشان داد که ۵ سال پس از واکسیناسیون، کودکان در ۵۲٪ موارد کاهش شدید AntiHBs داشته‌اند (۲۸). در مطالعه Yao و همکاران در چین، سطح مثبت Anti-HBs در کودکان ۱۵-۱۱ ساله ۷۳/۶۸٪ بود که سطح حفاظتی با سرعت بیشتری کاهش یافته است به طوری که به دوز بوستر واکسیناسیون نیاز دارند (۳۰). مطالعه حاضر نیز مؤید این امر است که با گذشت زمان از میزان تیتراژ آنتی‌بادی در کودکان کاسته شده و سطح ایمنی با بالا رفتن سن کودکان کاهش یافته است. این امر نشان‌دهنده ضرورت برنامه‌ریزی جهت پیشگیری از این بیماری در سنین بالاتر به علت کاهش میزان ایمنی اکتسابی از طریق واکسن است. با توجه به نتایج بدست آمده، علت عدم پاسخ‌دهی تعدادی از کودکان می‌تواند به علت دلایل نقص در سیستم ایمنی، نداشتن زمینه ژنتیکی مناسب برای پاسخ‌دهی، عدم رعایت شرایط نگهداری واکسن (یخ زدن واکسن)، نوع واکسن به کار رفته و تکنیک غلط تزریق باشد. بررسی این عوامل در این مطالعه امکان‌پذیر نبود و با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد ضروری است که بررسی‌های بیشتری در این مورد به عمل آید. در این مطالعه گرچه ایمنی در درصد بالایی از کودکان وجود داشت اما ۶/۵٪ کودکان در این سنین، دچار افت سطح آنتی‌بادی کمتر از حد پیشگیرانه بودند و از ایمنی علیه این بیماری وخیم برخوردار نبودند که این مطلب می‌تواند برای سلامت کودکان که آینده‌سازان جامعه می‌باشند تهدیدی به حساب آید و آنان را مستعد ابتلا به این بیماری سازد. بنابراین لازم است که مسئولین سلامت جامعه در رابطه با پیشگیری از ابتلای این بخش از جامعه به ویژه در مناطقی که میزان بروز بیماری بالاست، درصدد برنامه‌ریزی‌های مؤثرتری برآیند و مطالعاتی از این قبیل در مناطق مختلف انجام گیرد تا بتوان بر اساس آن تصمیمات جامع و فراگیر در سطح کشور اتخاذ کرد.

References

1. Kharazi F, Darbvy F, Mahdavi M, Nazaran M H. Efficacy of Aje-F nano-complex in the improvement of hepatitis B vaccine immunogenicity. *Medical Sciences* 2014; **24**(1): 22.
2. Afsharian M, Gaderi M, Vaziri S, Legayi Z, Gadiiri K, Janbakhsh A R, et al. Immune response to hepatitis B vaccine in 6-7 years old children vaccinated at birth. *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences* 2011; **15**(6): 481-484.
3. Aminian, F, Nikkahan B, Nazari R. Immune response to Hepatitis B vaccine in health care workers Amol 2013. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2014; **24**(114): 158-162.

4. Murray P R, Rosenthal K S, Kobayashi G S. editors. Medical Microbiology, 4th ed. New York. Raven Press 2005; 146-185.
5. Azizi F, Malekzade R, Janghorbani M, Hatami H. *Epidemiology and control of the common diseases in Iran*. 1st ed. Tehran, Eshtiagh Publication 2001; 714-742.
6. Vaziri S, Khanahmadi A, Najafi F, Khazaei S. Comparison of protective antibody level against hepatitis B in accelerated and conventional vaccination. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences* 2012; **14**(2): 48-51.
7. Merat S, Rezvan H, Nouraei M, Jamali A, Assari S, Abolghasemi H, et al. The prevalence of hepatitis B surface antigen and anti-hepatitis B core antibody in Iran: a population-based study. *Arch Iran Med* 2009; **12**(3): 225-231. doi:10.1016/j.ijid.2009.11.032.
8. Van Damme P, Cramm M, Safary A. Heat stability of a recombinant DNA hepatitis B vaccine. *Vaccine* 1992; **10**: 366-367. doi:10.1016/0264-410X(92)90064-Q.
9. Jain A K, Mittal S K, Ramjis Chakravarti A. Hepatitis B vaccine in the EPI schedule. *Indian J Pediatric* 2005; **72**(8): 661-664. doi:10.1007/BF02724073.
10. Maurean M, Jonas M D. Viral hepatitis walker pediatric gastrointestinal disease pathophysiology diagnosis. *Management*. 3rd ed. Mosby 2000; 939-964. doi: 10.1016/S0016-5085(00)70066-7.
11. Izadi N, Aghakhani A, Banifazl M, Sofian M, Mahdavi F, Islamifar A, et al. continuation of hepatitis B antibodies in vaccinated children in areas with low end emicity. *Journal of infectious Diseases and Tropical Medicine* 2009; **14**(47): 39-42. doi:10.1016/j.ijid.2010.02.1992.
12. Fethullehpoor A, Hematpour S, Gaderi A. The study of protective effect of Hepatitis B vaccine in 12 to 24 months old vaccinated children of sanandaj. *Journal of infectious Diseases and Tropical Medicine* 2008; **13**(41): 65-70.
13. Alavian M. *The guideline for hepatitis and liver diseases in Iran*. Persian. Tehran. Noredanesh Pub, 2003; 68-72. doi: 10.18869/acadpub.ijb.21.3.197.
14. Chang M H. Poor response to HBV vaccination and strategies to enhance immunogenicity. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2004; **19**: 131-132. doi: 10.1111/j.1440-1746.2004.03663.X.
15. Kazemi A N, Azizi N. To evaluate the effectiveness of hepatitis B vaccination after three doses of the vaccine in children in Zanzan in 1997. *Journal of Zanzan University of Medical Sciences* 1998; **29**: 38-41.
16. AzarKar Z. Efficacy of Hepatitis B vaccine in children from 12 to 16 months in Mashhad health centers. *The Journal of Qazvin Univ of Med Sci* 2004; **29**: 38-41.
17. Gold Y, Somech R, Mandel D, Peled Y, Reif S. Decreased immune response to hepatitis B eight years after routine vaccination in Israel. *Acta Pediatric* 2003; **92**(10): 1158-1162.
18. Sood A, Sing D, Mehta S, Midha V, Kumar R. Response to hepatitis B vaccine in preterm Babies. *Indian J Gastroenterology* 2002; **21**(2): 52-54. doi:10.1007/S12664-010-8004-Z.
19. Esmaeili doki M, Zahedpasha Y, Mahdavi A, Haji Ahmadi. The effect of hepatitis B vaccination in low birth weight and normal. *Journal of Babol University of Medical Sciences* 2003; **5**(2): 14-18.
20. Whittle H, Jaffar S, Wansbrough M, Mendy M, Dumpis U, Collinson A, Hall A. Observational study of vaccine efficacy 14 years after trial of hepatitis B vaccination in Gambian children. *BMJ* 2002; **325**(7364): 569. doi: 10.1136/bmj.325.7364.569.
21. Sallam T A, Alghsham H M, Ablohom A A, Alarosi M S, Almotawakel R E, Farea N H, et al. Immune response to Hepatitis B vaccine among children in Yemen. *Saudi Med J* 2005; **26**(2): 281-284.
22. Ahmadi M, Moosavi S M, Jahanfar F. Comparison of antibody level in post hepatitis B vaccination with 12-15 and 21-24 months age. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences* 2012; **14**(2): 65-68.
23. Salehi M, Saneimoghadam E, Khosravi S. Evaluation of immune response of Hepatitis B vaccination in Zahedan infants. *Journal of East Physician* 2002; **4**(3): 155-158. doi: 10.5812/ircmj.2282.
24. Garcia Llop L, Asensi Alcoverro A, Coll Mas P. Anti-HBs titers after a vaccination program in children and adolescents. Should a booster dose be given? *An Esp Pediatric* 2001; **54**(1): 32-37. doi: 10.1016/S1695-4033(01)78646-8.
25. Zahedpasha Y, Ahmadpour Kacho M, Pour Nasrollah M, Bijani A, Saadat H, Mazloumi A. Immune response in preterm infants to hepatitis B vaccine. *J Babol Univ Med Sci* 2011; **13**(4): 34-39.
26. Rezai M, Nooripoor S, Gurbani R, Ramazan shams F, Mamishi S, Mahmoudi S. The level of antibody after hepatitis B vaccination in children 1 to 15 years in semnan. *Journal of Semnan Research in Medical Sciences* 2014; **1**(55): 1-3.
27. Rafiee M, Majidi J, Hashemi F, Hossinpur sakha S, Nejati N, Mustafa gharabaghi M. compare hepatitis B surface antigen antibody response in infants after vaccination with hepatitis B vaccine at the children's hospital and Al. *Journal of Tabriz University of Medical Sciences* 2007; **28**(4): 55-58.
28. Rafizadeh B, Kazemi A N, Amir Mogadami H R, Mousavi Nasab N. The evaluation serum antibodies the hepatitis B antigen S in vaccinated children 7 to 9 years old in zanzan. *Journal of Zanzan University of Medical Sciences* 2004; **47**: 49-55.
29. Mostafavizadeh K, Salehi H, Imani R, Hagayeg M R. The level of antibodies against hepatitis B virus surface antigen after a period of 5-6 years after vaccination in children new to the school in shahrkord. *Journal of infectious Diseases and Tropical Medicine* 2002; **6**(3): 194-196.
30. Yao J, Shan H, Chen Y, Jiang Z G, Dai X W, Ren J J, et al. The one year effects of three doses of hepatitis B vaccine as a booster in anti-HBs-negative children 11-15 years after primary immunization China. *Hum Vaccin Immunotherapy* 2015; **11**(5): 1114-1119. doi:10.4161/21645515.2014.9870 01

Original Article

Polymorphisms of T-cell immunoglobulin mucin Domain-1 Gene and its Association With rheumatoid arthritis

Farzad Alizadeh Mofrad*, Parsa Mohammad Jafari

Department of Science, Islamic Azad University of Urmia, Iran.

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

Received: 26 December 2016 Accepted: 12 February 2017 First Published online: 17 January 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):42-48

Abstract

Background: TIM-1, a member of the T cell immunoglobulin and mucin domain (TIM) gene family was implicated as a Rheumatoid arthritis susceptibility gene in previous studies. The aim of this study was to investigate the association of the genotype and allele frequencies of the TIM-1 polymorphisms in patients with Rheumatoid arthritis.

Methods: PCR-RFLP (Polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism) & SSP-PCR (Single Specific Primer-Polymerase Chain Reaction) were used for investigating the presence of TIM-1 polymorphisms in 88 RA patients and 88 healthy controls.

Results: The genotype and allele frequency of TIM-1 polymorphisms were significantly different between the patient and controls. Significant association was observed between this polymorphisms (G<A1637, A<G1454, C<G416, G<A232) and the risk of Rheumatoid arthritis.

Conclusion: These results strongly suggest that 232A>G and -1637A>G polymorphism of the Tim-1 might be associated with susceptibility to RA.

Keywords: TIM-1, Polymorphism, Rheumatoid arthritis.

How to cite this article: Alizadeh Mofrad F, Mohammad Jafari P. [Polymorphisms of T-cell immunoglobulin mucin Domain-1 Gene and its Association With rheumatoid arthritis]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February - March;40(6):42-48. Persian.

مقاله پژوهشی

پلی مورفیزم های ژن موسینی نوع یک سلول T و ارتباط آنها با بیماری آرتریت روماتوئید

فرزاد عالی زاده مفرد^{*}، پارسا محمد جعفری

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه، ایران.
^{*}نویسنده مسئول؛ ایمیل: Khashayarsha2500@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۶ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۴ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ بهمن و اسفند؛ ۴۰(۶): ۴۲-۴۸

چکیده

زمینه: MIT-۱ یک عضو از ایمونوگلوبین های سلول های T و خانواده ژنی موسینی MIT می باشد که به عنوان یک ژن مستعد کننده آرتریت روماتوئید در مطالعات گذشته گزارش شده است. هدف از انجام این پژوهش ارتباط پلی مورفیزم های ژن MIT-۱ با میزان استعداد ابتلا به آرتریت روماتوئید در بیماران دچار آرتریت روماتوئید و افراد سالم بود.

روش کار: PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) و (Single Specific Primer-Polymerase Chain Reaction) SSP-PCR به منظور بررسی حضور پلی مورفیزم های سکانس های ژن MIT-۱ در ۸۸ بیمار مبتلا به RA و ۸۸ سالم استفاده شد. از آزمون χ^2 برای بررسی فراوانی ژنوتیپ افراد و رابطه آن با بیماری آرتریت روماتوئید استفاده گردید. $P < ۰/۰۵$ معنی دار محسوب شد.

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

نتیجه گیری: این نتایج نشان داد که ممکن است پلی مورفیزم های $232A>G$ و $1637A>G$ ژن TIM-1 با استعداد ابتلا به بیماری آرتریت روماتوئید در ارتباط باشد.

کلید واژه ها: MIT-۱، پلی مورفیزم، آرتریت روماتوئید

نحوه استناد به این مقاله: عالی زاده مفرد ف، جعفری پ م. پلی مورفیزم های ژن موسینی نوع یک سلول T و ارتباط آنها با بیماری آرتریت روماتوئید. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۴۲-۴۸

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

آرتريت روماتوئيد (AR یا diotamuehR sitirhtra) یک بیماری سیستمیک و مزمن می باشد. این بیماری در میان بیماری های روماتیسمی تقریباً جزو شایع ترین بیماری های التهابی می باشد. به طوری که براساس بررسی های صورت گرفته این بیماری یک درصد جمعیت جهان را درگیر کرده است. البته میزان شیوع این بیماری به نقل از انجمن روماتولوژی در ایران، از رده جهانی پایین تر است و از هر ۱۰ هزار تن ۳۶ تن به این بیماری مبتلا می شوند. میزان شیوع با بالا رفتن میزان سن در انسان افزایش می یابد. شروع بیماری آرتريت روماتوئيد در دهه های چهارم و پنجم زندگی شایعتر است (۳،۲،۱) و در ۸۰ درصد از بیماران، بین سن ۳۵ تا ۵۰ سالگی پدیدار می شود. بررسی های خانوادگی نشانگر استعداد ژنتیکی در ابتلا به این بیماری در خویشاوندان درجه یک - آنها (که بیماری آنها همراه با وجود آنتی بادی فاکتور روماتوئيد یا لاتکس است) به میزان ۴ برابر بیشتر از افراد بدون پیشینه خانوادگی می باشد (۶،۵،۴). سفتی صبحگاهی مفصل ها، تورم مفصل، صدمه به رگهای خونی و بافتی، درد مفصل و ناتوانی و خستگی از نشانه های بروز این بیماری می باشد. علت دقیق AR ناشناخته است ولی در ایجاد این بیماری ایمنی سلولی و ایمنی هومورال هر دو نقش دارند. از جمله علل احتمالی این بیماری عفونت ها را ذکر کرده اند. در همین زمینه باکتری ها، مایکوباکتری ها، مایکو پلاسما و حتی ویروس ها به عنوان عوامل مسبب تحت بررسی قرار گرفته اند (۷،۸،۹). از جمله ژن های مرتبط با بیماری AR می توان به خانواده MIT (mucin miamod T-Ilce nilubolgonummi dna) اشاره کرد. که نمونه ایی از مولکول های نقاط واری ایمنی شناخته می شوند (۱۰،۱۱،۱۲). گلیکوپروتئین های خانواده MIT از موج پپتید، منطقه گذر غشایی، دومن موسین، دومن ایمونوگلوبین و دومن سیتوپلاسمیک تشکیل شده اند. در پژوهش های گوناگون ارتباط چندین ژن به ویژه ژن موسینی نوع یک سلول T (MIT-۱) یا ۱ nicum miamod T-Ilce nilubolgonummi)، با بیماری AR شناسایی شده است و بر روی لنفوسیت های DCT⁺ تمایز یافته با سلول های dT₂ بروز می یابد و به عنوان یک محرک کمکی برای فعال شدن این سلولها عمل کرده و نقش مهمی در تنظیم و عملکرد سلول های hT₂ و سایتوکاین های مرتبط دارد (۱۵،۱۴،۱۳). پژوهش ها نشان می دهند که بیان MIT-۱ به صورت چشم گیری در بیماران مبتلا به AR افزایش می یابد و پلی مورفسم های این ژن می توانند به عنوان عامل موثری در استعداد ابتلا به AR در بیماران عمل کنند (۹،۶،۵). با این وجود تا کنون پژوهشی در ایران در مورد ارتباط این ژن با بیماری AR انجام نشده است. بنابراین هدف از انجام این پژوهش، بررسی ارتباط برخی از پلی مورفسم های (G>A ۱۶۳۷A-)

G>A ۱۴۵۴A-، G>C ۴۱۶C- و A>G ۲۳۲G-) ژن MIT-۱ در بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئيد می باشد

روش کار

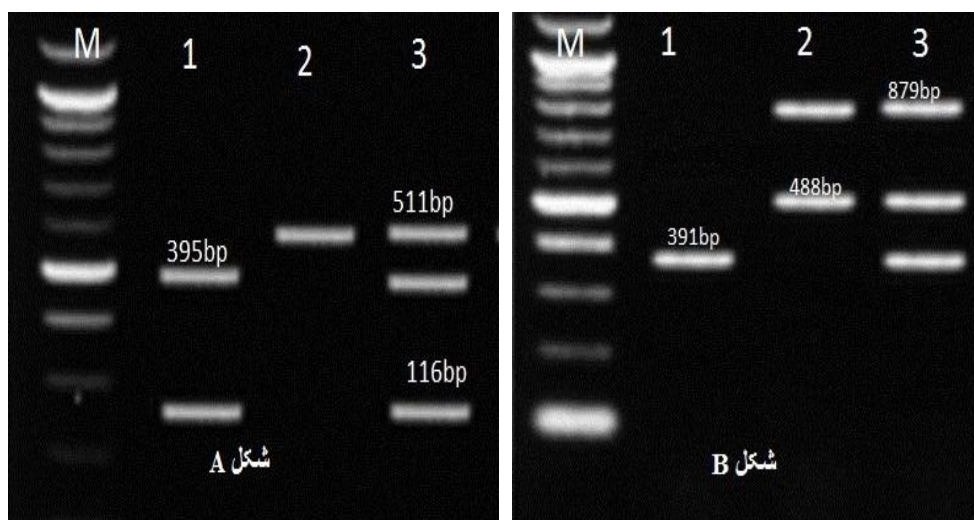
پژوهش از نوع مورد-شاهدی می باشد. این پژوهش بر روی ۸۸ فرد مبتلا به بیماری AR و ۸۸ فرد سالم به عنوان گروه کنترل انجام شد. در افراد سالم (کنترل) تلاش شد که از نظر جنسیت و سن با گروه بیماران همخوانی داشته و هیچ گونه پیشینه خانوادگی بیماری AR تا سه نسل پیشین را نداشته باشند. در ادامه پس از کسب رضایت از افراد مورد بررسی، ۵ میلی لیتر خون محیطی از آنها گرفته شد که ۱/۵ میلی لیتر با ماده ضد انعقاد EDTA (با غلظت ۰/۵ مولار) جهت استخراج AND سلولی با استفاده از کیت استخراج DNA (Genet Bio) استخراج شد. برای بررسی پلی مورفسم های مورد نظر و مشخص شدن ژنوتیپ های افراد مورد پژوهش، ابتدا قطعه های در برگیرنده ای ناحیه رمز گذار MIT-۱ با به کارگیری از آغازگرهای اختصاصی طراحی شده بودند (جدول ۱)، تکثیر گردیدند. در ادامه محصولات PCR از نظر وجود پلی مورفسم های MIT-۱ با روش RFLP-PCR و با بهره گیری از آنزیم برشی Pst1 (Fermentas، آمریکا) که آلل های پلی مورفسم را برش می دهد مورد بررسی قرار گرفت. ارزیابی پلی مورفسم های G>A ۲۳۲A- و G>A ۱۶۳۷A- با استفاده از روش SSP-PCR و برای ارزیابی پلی مورفسم های A>G ۱۴۵۴G- و C>G ۴۱۶G- از روش RFLP-PCR استفاده شد. واکنش PCR در ۳۵ سیکل در حجم ۲۵ میکرولیتر که دارای، یک میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت، ۳ میکرولیتر DNA، ۷ میکرولیتر H₂O و ۱۳ میکرولیتر MasterMix (Ampliqon دانمارک) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Giagen) آلمان) به قرار زیر انجام شد: واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه و سپس، ۳۵ چرخه طیف دمایی به ترتیب زیر تکرار گردید: دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ثانیه جهت واسرشت سازی دو رشته DNA، اتصال پرایمرها به مدت ۳۰ ثانیه در ۵۵ درجه سانتی گراد، طولیل سازی به مدت ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد و گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. محصولات PCR توسط آنزیم های محدود الاثر TaqI و MspI (فرمنتاز فرانسه) مورد هضم قرار گرفتند و الکتروفورز روی ژل آگارز ۲ درصد برای مشاهده قطعات حاصل هضم آنزیمی انجام شد. با توجه به موقعیت هضم آنزیمی الگوهای گوناگون و باندهای گوناگون، ژنوتیپ ها بر روی ژل الکتروفورز دیده شدند (شکل ۱). برای بررسی اختلاف میان توزیع ژنوتیپی در دو گروه مبتلا و کنترل، آزمون آماری کای دو

هتروزیگوت AG در مقایسه با ژنوتیپ های هوموزیگوت AA+GG پلی مورفیسم $G<A<1454$ - در دو گروه، ارتباط معنی داری دیده نشد ($OR=0/635$, $P>0/05$) (جدول ۲). همچنین تفاوت معنی داری در فراوانی آلل G/A ناحیه $G<A<1454$ - در دو گروه دیده نشد ($OR=1/143$, $P>0/05$) (جدول ۳). این در حالی بود که فراوانی ژنوتیپ های پلی مورفیسم $G>A<1637$ - در بیماران به مراتب کمتر از گروه کنترل بود و تفاوت معنی داری را نشان می دادند ($OR=1/976$, $P<0/01$) (جدول ۲). همچنین فراوانی آلل G/A ناحیه $G>A<1637$ - در بیماران شایعتر از گروه کنترل بود ($OR=1/676$, $P<0/01$) (جدول ۳). برخلاف میزان فراوانی پلی مورفیسم $G>A<1637$ - فراوانی ژنوتیپ های پلی مورفیسم $G>C<416$ - در بیماران نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد ($OR=1/915$, $P>0/05$) (جدول ۲). همچنین فراوانی آلل G/C ناحیه $G>C<416$ - در بیماران به AR نیز تفاوت معناداری با گروه کنترل نداشت ($OR=1/262$, $P>0/05$) (جدول ۳). در ادامه با ارزیابی هاپلوتایپ های در بیماران و گروه کنترل، یافته ها بیانگر این بود که در میان تمام هاپلوتایپ ها موجود، هاپلوتایپ های AAGA, GAGG, AACG و هاپلوتایپ GAGA در هیچ کدام از دو گروه بیمار و کنترل تشخیص داده نشدند. ولی هاپلوتایپ های AGGA, AGCA و ACGC در بیماران نسبت به گروه کنترل دارای تفاوت معنی داری بودند ($OR=95\%$, $P<0/01$, $\chi^2=8/20$). این یافته ها بیانگر احتمال ارتباط هاپلوتایپ های AGCA, AGGA و ACGC با خطر ابتلا به آرتریت روماتوئید در این پژوهش می باشد ($P<0/01$).

مورد استفاده قرار گرفت و همچنین (sddO oitar) RO با فاصله اطمینان ۹۵ درصد جهت تخمین ارتباط میان ژنوتیپ های گوناگون پلی مورفیسم های $G>A<1637$ - $G<A<1454$ ، $G>C<416$ و $G<A<232$ - با خطر ابتلای به بیماری AR ارزیابی گردید. در همه محاسبات، $P<0/05$ به عنوان شاخص ارتباط معنی دار میان ژنوتیپ ها با بیماری AR مد نظر قرار گرفت. توزیع ژنوتیپ و آلل این پلی مورفیسم ها در معادله Hardy-Weinberg می باشد.

یافته ها

یافته های آزمایشگاهی در کنار داده های مربوط به دو گروه بیمار و کنترل بیانگر تفاوت معنی داری میان سن ($P=0/670$) و جنس ($P=0/548$) در دو گروه (بیمار و کنترل) نبود که نشان دهنده همسان سازی متغیرها مورد بررسی در این پژوهش می باشد. تعیین ژنوتیپ ها و آلل ها در هر دو گروه بیمار و کنترل به طور موفقیت آمیزی انجام شد. فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت AG نسبت به ژنوتیپ های AA, GG ناحیه پلی مورفیسم $G>A<232$ - در دو گروه دارای اختلاف معنی داری بود ($OR=1/809$, $P<0/01$) (جدول ۲). این یافته ها نشان داد که دارندگان ژنوتیپ هتروزیگوت AG خطر بیشتری برای ابتلا به AR در مقایسه با ژنوتیپ های هوموزیگوت این پلی مورفیسم دارند. همچنین آلل A پلی مورفیسم $G>A<232$ - دارای شیوع تقریباً - بیشتری نسبت به آلل G در بیماران بود ($OR=3/652$, $P<0/01$) که می تواند نشان دهنده ارتباط این آلل با افزایش خطر ابتلا به بیماری AR باشد (جدول ۳). در محاسبه توزیع فراوانی ژنوتیپ



شکل ۱. نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم های ژن TIM-1 با استفاده از آنزیم TaqI برای $G>C<416$ و آنزیم MspI برای $G>A<1454$ - با روش PCR-RFLP. (A) ژنوتیپ های $G>C<416$ - مارکر M: 500bp: ۱. ژنوتیپ CC: ۲. ژنوتیپ GG: ۳. ژنوتیپ CG (B). ژنوتیپ های $G>A<1454$ - ژنوتیپ AA: ۲. ژنوتیپ GG: ۳. ژنوتیپ GA.

جدول ۱. پرایمرهای سکانس پلی مورفیسم های ژن TIM-1 در این پژوهش

پلی مورفیسم	ردیف پرایمر	دما (°C)
-۴۱۶G>C	GCATGTTGTACAGGAGCATGA GCAGACAGGCTGGTTGGTACC	۶۵
-۱۶۳۷A>G	CTTCCAGGTTCAAGCAATTCTTCTA CATCTTGCTTGTTCATTTAGC	۶۰
-۲۳۲A>G	AATCGGGCTGTTGACTTCTGCT TCAGGGGCTGTTTCTGTGGA	۵۹
-۱۴۵۴G>A	TCAGGGGCTGTTTCTGTGGG CATCTTGCTTGTTCATTTAGC	۵۸
	CAGGTTGGTCTCAAACTCCTT TTCCAAGGAGGCAGTGGTGG	

جدول ۲: مقایسه فراوانی ژنوتایپ در گروه کنترل و بیمار

پلی مورفیسم	ژنوتایپ	کنترل (درصد)	بیمار (درصد)	χ^2	P-value	OR(95% CI)
-۱۴۵۴G>A	AA GG+AG	۲۷(۲۸/۹) ۷۱(۷۴/۲)	۲۶(۲۸/۸) ۷۶(۷۷/۵)	۰/۶۳	>۰/۰۵	۰/۶۳۵(۰/۲۳-۱/۷۳۳)
-۴۱۶G>C	CC GG+GC	۳۴(۲۸/۹) ۵۵(۶۲/۰)	۳۹(۳۹/۵) ۸۰(۶۷/۸)	۱/۵۵	>۰/۰۵	۱/۹۱۵(۰/۸۸۲-۴/۱۵۵)
-۲۳۲A>G	AG GG+AA	۸۳(۶۱/۴) ۴۲(۳۲/۱)	۴۹(۲۹/۰) ۵۲(۴۰/۰)	۱۰/۴۸	<۰/۰۱	۱/۸۰۹(۱/۲۶۲-۲/۵۴۹)
-۱۶۳۷A>G	AG GG+AA	۴۷(۲۶/۱) ۲۷(۲۰/۴)	۷۷(۶۰/۳) ۵۸(۳۷/۰)	۲۶/۴۳	<۰/۰۱	۱/۹۷۶(۰/۱۶۳-۲/۳۵۸)

* 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)
-۱۴۵۴G>A	G A	۲۹(۱۷/۱) ۱۰۰(۸۱/۰)	۳۳(۱۸/۲) ۹۶(۷۸/۰)	۱/۹۱۰	>۰/۰۵	۱/۱۴۳(۰/۸۸-۱/۴۸۵)
-۴۱۶G>C	G C	۷۷(۴۰/۲) ۸۹(۶۵/۷)	۹۸(۴۴/۵) ۷۲(۵۶/۲)	۰/۹۰۲	>۰/۳۴۸	۱/۲۶۷(۰/۷۷۲-۲/۰۷۸)
-۲۳۲A>G	A G	۸۹(۵۰/۵) ۹۱(۳۹/۰)	۷۸(۴۸/۵) ۹۹(۴۴/۰)	۰/۱۴	<۰/۰۱	۳/۶۵۲(۱/۳۳۰-۱۰/۰۳۰)
-۱۶۳۷A>G	A G	۶۲(۲۷/۵) ۸۸(۵۹/۹)	۹۹(۶۱/۱) ۷۵(۳۹/۵)	۲۱/۷۱	<۰/۰۱	۱/۶۷۶(۱/۰۵۵-۲/۶۶۲)

* وجود اختلاف معنی دار

بحث

پلی مورفیسم های $-۱۴۵۴A<G$ ، $-۱۶۳۷A>G$ ، $-۴۱۶C<G$ و $-۲۳۲G<A$ - ژن MIT-۱ با استعداد ابتلا به آرتریت روماتوئید، فراوانی شیوع این پلی مورفیسم ها در دو گروه بیمار و کنترل مورد ارزیابی قرار گرفت. در این پژوهش، فراوانی ژنوتیپ های هتروزیگوت AG در برابر ژنوتیپ های هوموزیگوت AA+GG نواحی ۱۶۳۷- و ۲۳۲- در گروه بیمار به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود. به عبارت دیگر افرادی که دارای ژنوتیپ هتروزیگوت AG (سکانس های ۱۶۳۷- و ۲۳۲-) هستند شانس ابتلا بیشتری به AR را نشان می دادند. همچنین آلل A سکانس های ۱۶۳۷- و ۲۳۲- در گروه بیمار فراوانی بیشتری را نشان می دادند. در نتیجه خطر ابتلا به AR در افراد دارای آلل A به میزان بیشتری از افراد فاقد این آلل بود. که بیانگر نقش حفاظتی آلل G در این بیماری بود. یافته-های Chae و همکاران نیز بیانگر فراوانی ژنوتیپ و آلل ۱۶۳۷- در

آرتریت روماتوئید یک بیماری مزمن است که موجب تورم و درد در برخی از مفصل های بدن به ویژه مفاصل کوچک دست می شود. بیماری روماتیسم مفصلی جزو آن دسته از بیماری های انسانی است، که به آنها بیماری های خود ایمنی (Autoimmune disease) می گویند (۱۶، ۱۷). پروتئین های TIM عامل موثری در تعیین سرنوشت، تمایز سلول های T و همچنین دارای نقش موثری در بیماری های چون آلزایمر (MS)، ایدز (HIV) و ویروس های نقص ایمنی میمونی (Simian immunodeficiency viruses یا SIV) می باشند. TIM-1 یکی از خانواده های ژنی می باشد که به عنوان پذیرنده سلولی ویروس هپاتیت A در انسان و میمون شناخته می شوند (۱۹، ۱۸). از آنجایی که تا کنون ارتباط پلی مورفیسم های ژن MIT-۱ در استعداد ابتلا به آرتریت روماتوئید در ایران صورت نگرفته بود، در این پژوهش به منظور ارتباط میان

عوامل ژنتیک و عوامل محیطی بستگی داشته و باید مد نظر قرار گیرد. در نتیجه هم راستا با پژوهش های سایر پژوهشگران پیشنهاد می شود که مکانیسم های مولکولی مرتبط با تاثیر ژن TIM-1 با بیماری RA مورد بررسی بیشتر قرار گیرد تا با شناخت مکانیسم های ایجاد این بیماری بتوان به راه های پیشگیری، جلوگیری از عود بیماری، آسیب شناسی بیماری، غربالگری افراد مستعد و استفاده از راه کارهای مناسب درمانی به منظور شناخت بیشتر مکانیسم های ایجاد کننده این بیماری پرداخت.

نتیجه گیری

این نتایج نشان داد که پلی مورفیسیم های $G > A$ TIM-1 و $G > A$ TIM-1 ممکن با استعداد ابتلا به بیماری آرتریت روماتوئید در ارتباط باشند.

قدردانی

با سپاس فراوان از کلیه بیماران و دیگر گرامیانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند.

منابع مالی

تمام هزینه طرح توسط اعضای گروه تامین اعتبار شد.

بیماران مبتلا به RA در گروه بیمار در جمعیت کره می باشد (۲۰). همچنین Xu و همکاران نیز فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت AG نواحی ۱۶۳۷- و ۲۳۲- را نسبت به ژنوتیپ های هوموزیگوت GG+AA در بیماران RA در جمعیت چین معنادار گزارش کردند. ولی تفاوت معناداری را در میان آلل A/G در دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نکردند (۲۱). این در حالی بود که یافته های ما در این پژوهش برخلاف یافته های ایکس یو و همکاران، بیانگر ارتباط احتمالی آلل A ناحیه ۲۳۲- با بیماری RA بود. وجود یافته های متفاوت در این گزارش و گزارش ذکر شده را می توان، به دلیل تفاوت های ژنتیکی، تاثیر عوامل محیطی، تفاوت در حجم نمونه ها دانست. از سوی دیگر تفاوت قابل توجهی از ژنوتیپ ها و آلل ها ناحیه ۱۴۵۴- و ۴۱۶- در دو گروه دیده نشد. Mosaad و همکاران نیز به یافته های مشابهی پس از ارزیابی ارتباط میان پلی مورفیسیم ۱۴۵۴- با بیماری RA در جمعیت مصر دست یافتند، آنها هیچ گونه ارتباطی میان ژنوتیپ و آلل ناحیه $G > A$ ۱۴۵۴- در دو گروه بیمار و کنترل گزارش نکردند (۲۲). Chae و همکاران در کره (۲۰) و همچنین Xu و همکاران در کشور چین نیز سکانس ها $G > A$ ۱۴۵۴- و $G > C$ ۴۱۶- را با افزایش خطر ابتلا به RA مرتبط نشان ندادند (۲۱). بنابراین ارتباط پلی مورفیسیم های ژن TIM-1 در استعداد ابتلا به RA، به عوامل گوناگونی همچون تفاوت های ژنتیکی و جغرافیایی، تاثیر بر هم کنش این پلی مورفیسیم ها با سایر

References

1. Rubina N S, Mubeen M A, Kiran N, Vijay P, Asma butool S, Uddin I. Phytochemical Screening and in-vitro Anti-Inflammatory Activity of Methanolic Extract of Sterculia foetida L. *OSR-JPBS* 2016; **11**(2): 28-34.
2. Joanna L, Giles M, Choy E, Carmen N, Berg D, Paul B, et al. Functional Analysis of a Complement Polymorphism (rs17611) Associated with Rheumatoid Arthritis. *J Immunol* 2015; **8**: 25-32. doi: 10.4049/jimmunol.1402956
3. Wang X, Tian H J, Yang H K, Wanyan P, Peng Y J, Yang T. Meta-analysis: cycle oxygenase-2 inhibitors are no better than nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs with proton pump inhibitors in regard to gastrointestinal adverse events in osteo arthritis and rheumatoid arthritis. *Lww* 2011; **23**(10): 876-880. doi: 10.1097/meg.0b013e328349de81
4. Singh S, Jasvinder A, Noorbaloochi CH, Cullis SH, Tucker T, Christensen M, et al. Risk of serious infection in biological treatment of patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet* 2015; **386**(14): 258-265. doi: 10.1016/s0140-6736(14)61704-9
5. Abhishek N, Parveen S, Vishnupriya V, Gayathri R. Treatment Models for Rheumatoid Arthritis- A Review. *J Pharm Sci & Res* 2016; **8**(6): 520-524.
6. Aletaha D T, Neogi A J, Silman J, Funovits D T, Felson C O, Bingham N S, et al. Rheumatoid arthritis classification criteria. American College of Rheumatology/ European League against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010; **62**: 2569-2581.
7. Amy M, Wasserman W. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis. *Aafp* 2011; **84**(11): 1245-1252.
8. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012; **380**(9859): 2095-2128. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61728-0.
9. Aletaha D, Neogi T, Silman A J, Funovits J, Felson D T, Bingham CO III, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2010; **69**(9): 1580-1588. doi: 10.1136/ard.2010.138461.
10. van Herwaarden N, den Broeder A A, Jacobs W, van der Maas A, Bijlsma J W, van Vollenhoven RF, et al. Down-titration and discontinuation strategies of tumor necrosis factor-blocking agents for rheumatoid arthritis in patients with low disease activity. *BMJ* 2014; **9**(9): 104-155. doi:10.1002/14651858.

11. Singh J A, Furst D E, Bharat A, Curtis J R, Kavanaugh A F, Kremer J M. "2012 update of the 2008 American College of Rheumatology recommendations for the use of disease-modifying ant rheumatic drugs and biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *ACR* 2012; **64**(5): 258-265. doi: 10.1002/acr.21641
12. Li Z, Ju Z, Frieri M. The T-cell immunoglobulin and mucin domain (Tim) gene family in asthma, allergy, and autoimmunity. *Ingentaconnect* 2013; **34**(1): 21-26. doi: 10.2500/aap.2013.34.3646
13. Wu QW, Hu L, Cai P, Li Y. 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.
14. Mou Z, Shi J, Tan Y, Xu R. Association between TIM-1 gene polymorphism and allergic rhinitis in a Han Chinese population. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010; **20**: 3-8.
15. Kuchroo V K, Umetsu D T, DeKruyff R H, Freeman G J. The TIM gene family: emerging roles in immunity and disease. *Nat. Rev. Immunol* 2003; **3**(6): 454-462.
16. Smolen J S, Landewe R, Breedveld F C, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis* 2010; **69**: 964-975.
17. Gramling A, James R, O'Dell MD. Initial management of rheumatoid arthritis. *Jrheum* 2012; **38**(2): 11-25. doi: 10.1016/j.rdc.2012.05.003
18. Yeung M Y, McGrath M, Najafian N. The emerging role of the TIM molecules in transplantati on. *Am J Transplant* 2011; **11**(10): 2012-2019. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03727.x
19. Ohta K, Ichinose M, Nagase H. Japanese guideline for adult asthma. *Allergology* 2014; **63**(3): 293-333. doi: 10.2332/allergolint.14-rai-0766
20. Chae S C, Park Y R, Song J H. The polymorphisms of Tim-1 promoter region are associated with rheumatoid arthritis in a Korean population. *Immunogenetics* 2005; 56-69. doi: 10.1007/s00251-004-0743-5
21. Xu J R, Yang Y, Liu X M, Sun J Y, Wang J Y. Polymorphisms of the TIM-1 gene is associated with rheumatoid arthritis in the Chinese Hui minority ethnic population. *GMR* 2012; **11**(1): 61-69. doi: 10.4238/2012.january.9.7
22. Mosaad Y M, El-Bassiony S R, El-Ghaweet A E, Elhindawy M M, El-Deek B S, Sultan W A. TIM-1 rs41297579 G>A (-1454) and TIM-4 rs7700944 gene polymorphism as possible risk factor for rheumatoid arthritis: Relation to activity and severity. *Wiley* 2015; **42**(4): 55-65. doi: 10.1111/iji.12201

Original Article

The effect of 8 weeks aerobic training on changes beta-endorphin, cortisol, growth hormone levels and anthropometric factors in recovering addicts

Mehdi Abbasi Moghdam^{1*} , Maryam Keshvari¹, Mir Abdollah Tahramuzi²

¹PhD Student in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, University of Lorestan, Khorramabad, Iran.

²Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

*Corresponding author; E-mail: mehdi.abbasi3805@yahoo.com

Received: 27 October 2016 Accepted: 27 November 2016 First Published online: 17 January 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):49-55

Abstract

Background: Drug dependence is a physical, mental and social problem. That requires long-term and multilateral treatment. This study aimed to determine the impact of 8 weeks of aerobic training on changes beta endorphin, cortisol, growth hormone levels and anthropometric factors in recovering addicts.

Methods: In this study, 30 male recovering addicts whit age 25-35 years, were randomly divided into two groups: control and experimental. The exercise protocol was 8 weeks of aerobic training, three times pre week. The duration and the intensity of exercise were gradually added at the end of each phase of training. Beta-endorphin, cortisol and growth hormone levels analyzed by using an ELISA in pre test and post test. Paired t test and independent t test were used to examine differences between and within groups. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: The Results of this study showed that 8 weeks of aerobic training led to a significant increase in beta-endorphins, growth hormone and $VO_2\text{max}$ in the aerobic training group compared whit the preworkout ($p < 0.05$). But despite the decrease cortisol, body mass index and body fat percentage after exercise showed no significant difference ($p > 0.05$). The independent t-test results between the groups was only in variable growth hormone ($p > 0.05$).

Conclusion: Considering to the desired effect of aerobic training in increasing of beta-endorphin levels in recovering addicts in treatment centers and addiction clinics will be benefited from this training.

Keywords: Beta-Endorphin, Cortisol, Growth Hormone, Anthropometric, Addict.

How to cite this article: Abbasi Moghdam M, Keshvari M, Tahramuzi M A. [The effect of 8 weeks aerobic training on changes beta-endorphin, cortisol, growth hormone levels and anthropometric factors in recovering addicts]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February -March;40(6):49-55. Persian.

مقاله پژوهشی

اثر ۸ هفته تمرین هوازی بر تغییرات سطوح بتاندورفین، کورتیزول، هورمون رشد و عوامل آنترپومتریکی در معنادران رو به بهبود

مهدی عباسی مقدم^{۱*}، مریم کشوری^۱، میرعبالدله طهرآموزی^۲

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه لرستان، خرم آباد ایران.
^۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران.

*نویسنده مسئول: ایمیل: mehdi.abbasi3805@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۸/۶ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۷ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ بهمن و اسفند؛ ۴۰(۶): ۴۹-۵۵

چکیده

زمینه: وابستگی به مواد مخدر نوعی بیماری جسمی، روانی و اجتماعی است که درمان چند جانبه و طولانی مدتی را می طلبد. این مطالعه با هدف بررسی اثر ۸ هفته تمرین هوازی بر تغییرات سطوح بتاندورفین، کورتیزول، هورمون رشد و عوامل آنترپومتریکی معنادران در حال بهبودی صورت گرفته است. **روش کار:** در این مطالعه ۳۰ مرد معتاد در حال بهبودی با رده سنی ۲۵-۳۵ ساله، بصورت تصادفی به دو گروه مساوی کنترل و تجربی تقسیم شدند. پروتکل تمرین شامل هشت هفته تمرین هوازی/سه جلسه در هفته بود که بمدت و شدت تمرین هر آزمودنی بتدریج در پایان هر مرحله افزوده می شد. اندازه گیری سطوح بتاندورفین، کورتیزول و هورمون رشد به کمک روش الایزا در دو مرحله پیش و پس از آزمون انجام شد. از آزمون آماری تی همبسته و مستقل برای بررسی تفاوت میانگین های درون گروهی و بین گروهی استفاده و مقادیر $p < 0/05$ از نظر آماری معنی دار تلقی شد. **نتایج:** یافته های این پژوهش نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی باعث افزایش معنی دار غلظت بتاندورفین، هورمون رشد و حداکثر اکسیژن مصرفی نسبت به قبل تمرینات در گروه هوازی شد ($p < 0/05$) ولی غلظت کورتیزول، شاخص توده بدنی و درصد چربی بدن با وجود کاهش بعد از تمرین اختلاف معنی داری نداشت ($p > 0/05$). همچنین نتایج آزمون تی مستقل بین گروه ها تنها در متغیر هورمون رشد معنی دار بود ($p < 0/05$). **بحث و نتیجه گیری:** تحقیق حاضر بیان می دارد با توجه به اثر مطلوب فعالیت های هوازی در افزایش سطح بتاندورفین معنادران در حال بهبودی در مراکز درمانی و کلینیک های ترک اعتیاد از این تمرینات بهره برده شود.

کلیدواژه ها: بتاندورفین، کورتیزول، هورمون رشد، آنترپومتریک، معتاد

نحوه استناد به این مقاله: عباسی مقدم م، کشوری م، طهرآموزی م ع. اثر ۸ هفته تمرین هوازی بر تغییرات سطوح بتاندورفین، کورتیزول، هورمون رشد و عوامل آنترپومتریکی در معنادران رو به بهبود. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۴۹-۵۵

حق تألیف برای مؤلف 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

اعتیاد یکی از بزرگترین معضلات جوامع بشری است که نه تنها موجب اختلالات رفتاری و اجتماعی می‌گردد، بلکه با تاثیر بر جنبه‌های مختلف سلامت جسمی، خسارات مالی هنگفتی بر فرد، خانواده و جامعه وارد می‌سازد. ایران دومین مصرف کننده مواد مخدر در جهان است. بیشترین تاثیرات سوءاستفاده از مصرف مواد مخدر روی سیستم عصبی مرکزی، سیستم عصبی خودکار و روده-هاست. این در حالی است که سوءاستفاده از مواد مخدر، دیگر سیستم‌های بدن شامل سیستم تنفسی و قلبی عروقی را نیز متاثر می‌سازد (۱). وابستگی به مواد مخدر را نوعی بیماری جسمی، روانی و اجتماعی می‌دانند. چند بعدی و پیچیدگی عوامل دخیل در وابستگی به مواد مخدر، لزوم درمان چند جانبه و طولانی مدت را ایجاد می‌کند (۲). اندورفین‌ها، ترکیبات شیمیایی شبه مخدری هستند که فرآورده‌های پلی پپتیدی بوده و توسط غده هیپوفیز و هیپوتالاموس تولید می‌شوند و مشابه ماده تسکین‌دهنده، قادر هستند یک حس خوب بودن و فقدان درد را ایجاد نمایند. به عبارت دیگر به عنوان کننده درد عمل می‌کنند (۳). در مسیر اعتیاد بتاندورفین‌ها که مواد شبه مخدر درون‌زاد هستند، کاهش می‌یابد، بنابراین پس از ترک اعتیاد و در حین آن که مواد خارجی به بدن نمی‌رسد، مغز دیگر مواد شبه مرفین درون‌زاد ترشح نمی‌کند، درد و حالت روحی ناخوش، اضطراب و بی‌قراری در شخص زیاد می‌شود. بتاندورفین علاوه بر کاهش درد سبب ایجاد نشاط در فرد می‌شود (۴). با کاهش اندورفین‌ها در مغز شخص معتاد و بدن او، خاصیت دشمن‌کشی منوسیت‌ها که از سلول‌های دفاعی بدن هستند کاهش می‌یابد. شخص معتاد نسبت به افراد سالم به عفونت‌ها حساس‌تر و زودتر مبتلا می‌شود (۴). از طرفی یافته‌ها نشان می‌دهد که فعالیت بدنی، آزادسازی پپتیدهای شبه افیونی درون‌زاد مغز، به ویژه بتاندورفین را افزایش می‌دهد. بر این اساس ممکن است که ورزش به عنوان یک عامل کمک کننده با ارزش در درمان و بهبود وضعیت افراد معتاد موثر باشد. یکی دیگر از نگرانی‌ها در درمان ترک مواد مخدر می‌تواند مربوط به افزایش وزن و اختلالات تغذیه‌ای متعاقب ترک مصرف مواد مخدر باشد. آمارها بیانگر این موضوع است که چاقی بعد از ترک سیگار به عنوان یک عامل بیماری‌زای قابل پیشگیری به همراه مرگ و میرهای ناشی از آن می‌باشد (۵). قابل توجه‌ترین اثر اشاره شده بتاندورفین، نقش آن در تحریک به اصطلاح نشگی تمرین است. همچنین ترشح بتاندورفین‌ها به افزایش تحمل درد، بهبود کنترل اشتها و کاهش اضطراب، تنش، عصبانیت و آشفتگی منجر می‌شود. (۶) فعالیت ورزشی به علت تغییر هورمون‌های تنظیمی مرتبط با سیستم ایمنی بدن و ایجاد سازگاری فیزیولوژیکی و هورمونی، همواره مورد توجه قرار داشته است. از جمله این تغییرات سازگاری‌های مثبت هورمون‌های استرس مانند کورتیزول یا تغییر فعالیت لکوسیت‌ها

است (۷،۸). ازسوی دیگر کورتیزول اثرات عمیقی بر استرس، متابولیسم و اثرات تحریکی بر سیستم عصبی مرکزی دارد (۹). افزایش بیش از حد این هورمون بر روند متابولیسم تاثیر معکوس دارد، کاتابولیسم را تسریع می‌کند و سبب کاهش حجم عضلانی و بافت‌ها می‌شود. هورمون رشد نیز به عنوان هورمونی آنابولیک تحریک رشد بافت‌های مختلف بدن را بر عهده دارد و ورزش قوی‌ترین محرک ترشح هورمون رشد است (۱۰). ورزش و فعالیت‌های بدنی آزادسازی پپتیدهای شبه افیونی درون‌زاد مغز، به ویژه بتاندورفین را افزایش می‌دهد و از این راه اثرات مرفین و سایر آگونیست‌های گیرنده‌های شبه افیونی را پدید می‌آورد و آستانه‌ای درد را بالا می‌برد (۱۱). نتایج بررسی‌ها توسط Hakalae نشان داد که غلظت پپتیدهای افیونی داخلی به ویژه بتاندورفین در جریان ورزش حتی تا ۵ برابر افزایش می‌یابد (۱۲). Daneshmandi و همکاران نیز به بررسی وضعیت بدنی و توان هوازی معتادان پرداختند و نشان دادند توان هوازی افراد معتاد از افراد سالم پایین‌تر است. ورزش، دو نقش کلیدی مهم در روند کنترل وزن ایفا می‌کند (۱۳)، از یک طرف وزن بدون چربی را به حد مناسبی می‌رساند و از طرف دیگر توانایی سوخت و ساز را افزایش می‌دهد (۱۴). در مطالعه‌ای، Banitalebi و همکاران به بررسی تاثیر یک دوره فعالیت بدنی بر عوامل خطرزای قلبی عروقی معتادان پس از ترک مواد مخدر پرداختند. نتایج تحقیق نشان داد فعالیت ورزشی بر ترکیب بدنی و عوامل آمادگی جسمانی افراد معتاد پس از ترک تاثیر مثبتی دارد و از افزایش عوامل خطرزای قلبی عروقی جلوگیری می‌کند (۱۵). از طرفی نتایج پژوهش Saadipour و Gorji نشان داد که فعالیت بدنی روش مناسبی برای پیشگیری و درمان بیماری‌های وابسته به مواد مخدر است (۱۶ و ۱۷). با توجه به یافته‌های تحقیقات مذکور و اینکه تاکنون پژوهشی بعد از ترک اعتیاد انجام نشده است، این سؤال مطرح شد که آیا تمرین هوازی پیشرونده در دوره بعد از ترک می‌تواند باعث تغییر متغیرهای پژوهش گردد؟ بر این اساس با توجه به تاثیر بتاندورفین‌ها به عنوان کاهش‌دهنده درد و ایجاد نشاط در افراد و همچنین با توجه به اینکه سطح هورمون رشد به کورتیزول می‌تواند بیانگر شرایط بدن برای انجام فرایند کاتابولیسم یا آنابولیسم باشد، این پژوهش با هدف بررسی پاسخ هورمون‌های بتاندورفین، کورتیزول استراحتی، هورمون رشد این افراد در کنار بررسی عوامل آنتروپومتریک در یک دوره تمرینات هوازی پیشرونده در معتادان در حال بهبودی طراحی شد.

روش کار

تحقیق حاضر از نوع نیمه‌تجربی می‌باشد و جامعه آماری آن را معتادان در حال بهبود شهرستان خرم آباد تشکیل داده‌اند، به همین

ساعت ناشتایی، انجام شد. پس از جمع آوری داده‌ها از آمار توصیفی و استنباطی استفاده شد. از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف جهت تعیین توزیع طبیعی داده‌ها استفاده شد. همچنین از آزمون آماری تی همبسته برای بررسی اختلاف معناداری میانگین‌های درون گروهی و از آزمون آماری تی مستقل نیز برای بررسی اختلاف معناداری میانگین‌های بین گروه کنترل و تجربی استفاده شد. همی نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند و مقادیر $<0/05$ از نظر آماری معنی دار تلقی شد. کلیه داده‌ها در محیط نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

جدول ۲ میانگین و انحراف معیار سن، قد و وزن آزمودنی‌ها در گروه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. تمامی مقادیر گزارش شده براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار است. با توجه به نتایج آزمون کلموگروف - اسمیرنوف، داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردار بودند، به همین دلیل برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آماری پارامتریک استفاده شد. جدول ۳، مقایسه تغییرات درون گروهی هورمون بتاندورفین، کورتیزول استراحتی و رشد را به تفکیک در دو گروه کنترل و تمرینی در پیش و پس از پروتکل تمرینی نشان می‌دهد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی باعث افزایش معنی‌دار غلظت بتاندورفین و هورمون رشد نسبت به قبل تمرینات در گروه هوازی شد ($p < 0/05$) و غلظت کورتیزول استراحتی در گروه تجربی با وجود کاهش بعد از دوره تمرینی اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0/05$). در غلظت هورمون‌های بتاندورفین، کورتیزول استراحتی و رشد در گروه کنترل بعد از گذشت هشت هفته، تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). همچنین نتایج آزمون تی مستقل بعد از هشت هفته تمرین بین گروه‌ها نشان داد که تنها تفاوت معنی‌دار در متغیر هورمون رشد بود ($p < 0/05$) و بین گروه کنترل و تمرینی در متغیر بتاندورفین و کورتیزول استراحتی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). جدول ۴ نتایج درون گروهی متغیرهای شاخص توده بدنی، درصد چربی بدن و حداکثر اکسیژن مصرفی را نشان می‌دهد. شاخص توده بدنی و درصد چربی بدن برای هیچ کدام از گروه‌های کنترل و تجربی در آزمون تی همبسته نسبت به پیش آزمون تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). ولی نتایج این آزمون در گروه تمرینی برای متغیر حداکثر اکسیژن مصرفی تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$).

منظور با مجوز از ستاد مبارزه با مواد مخدر استان لرستان با شماره ۵۹/۱۹۱۵۷۹۱ با استفاده از نصب اطلاعاتی در انجمن‌های معتادان گمنام (NA)، تعداد ۳۰ نفر به صورت داوطلبانه با رده سنی ۲۵-۳۵ سال در این تحقیق شرکت کردند. لازم به ذکر است یکی از موارد انتخاب افراد مورد پژوهش این بود که افراد از ۶ ماه تا ۲ سال پاک (قطع مصرف) داشته باشند. پس از همگن‌سازی تعداد ۱۵ نفر به عنوان گروه تجربی (تمرین هوازی) و ۱۵ نفر به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. پروتکل تمرین شامل هشت هفته تمرین هوازی (سه جلسه در هفته) که آزمودنی‌ها در یک برنامه دویدن شرکت کرده و مدت و شدت هر آزمودنی به تدریج در پایان هر مرحله افزوده می‌شد. در هفته اول و دوم آزمودنی‌ها به مدت ۲۵ دقیقه با شدت ۶۵ درصد حداکثر ضربان قلب، در هفته سه تا ششم به مدت ۳۵ دقیقه با شدت ۷۵-۶۵ درصد حداکثر ضربان قلب و در هفته هفت و هشت به مدت ۴۰ دقیقه با شدت ۸۵-۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب تمرین انجام دادند. جدول یک بیانگر پروتکل تمرین هوازی در طی هشت هفته‌ی این پژوهش است (۱۸).

جدول ۱: پروتکل تمرین هوازی در طی هشت هفته

پروتکل تمرینی	
مدت تمرین (دقیقه)	شدت تمرین (درصدی از حداکثر ضربان قلب)
۲۵	۶۵
۳۵	۷۵-۶۵
۴۰	۸۵-۷۵

ویژگی‌های بدنی آزمودنی‌ها از قبیل سن، وزن، قد و BMI اندازه‌گیری و ثبت شد. وزن آزمودنی‌ها با استفاده از ترازوی عقربه‌ای با دقت ۰/۱ کیلوگرم به صورت استاندارد و حداقل لباس، قد با استفاده از متر نواری و از نسبت وزن به مجذور قد BMI محاسبه شد. جهت تعیین درصد چربی بدن از دستگاه Slim Guild و از شیوه چهار نقطه‌ای پشت بازو، فوق خاصره، چهار سر ران و شکم استفاده شد. از آزمون راکپورت به منظور برآورد اکسیژن مصرفی بیشینه‌ی آزمودنی‌ها به صورت میلی‌لیتر در هر کیلوگرم در دقیقه استفاده شد. تمامی متغیرهای آنروپومتریکی و حداکثر اکسیژن مصرفی در دو مرحله قبل و بعد از هشت هفته تمرین هوازی در هر دو گروه کنترل و تجربی اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری سطح بتاندورفین، کورتیزول استراحتی و هورمون رشد به کمک روش الایزا و از کیت تحقیقی USCN انجام گرفت. خونگیری در دو مرحله، یک روز قبل از اولین جلسه تمرین (پیش آزمون)، ۴۸ ساعت پس از پایان هفته هشتم تمرین (پس آزمون) بعد از ۱۳ تا ۱۲

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار مشخصات فردی آزمودنی‌ها در گروه‌های مورد پژوهش

گروه کنترل	سن	قد	وزن
گروه هوازی	۲۸/۸۶±۳/۵۰	۱۷۲/۸±۵/۴۱	۷۳±۸/۷
	۲۸/۴۶±۳/۲۹	۱۷۳/۳۳±۸/۶۵	۷۴/۲±۸/۷

جدول ۳: نتایج آماری تی همبستگی و مستقل بتا اندورفین، کورتیزول استراحتی و هورمون رشد پیش و پس ازآزمون

اختلاف درون گروهی		اختلاف بین گروهی		میانگین $\pm$ انحراف معیار		گروه	متغیر
P	T	P	T	پس آزمون	پیش آزمون		
۰/۴۸	۰/۷۰۲	۰/۴۴	۰/۷۸۶	۳/۹۵۰ $\pm$ ۰/۶۴۹	۴/۱۹۱ $\pm$ ۰/۶۷۷	کنترل	بتا اندورفین
		۰/۰۰*	-۶/۲۸۹	۴/۵۶۲ $\pm$ ۰/۵۸۱	۳/۰۵۳ $\pm$ ۰/۴۷۱	هوازی	pg/ml
۰/۳۱	۱/۰۳۴	۰/۵۶	-۰/۵۹۳	۷۴/۲۸۴ $\pm$ ۷/۱۹۷	۷۳/۵۹۰ $\pm$ ۷/۱۲۲	کنترل	کورتیزول استراحتی
		۰/۱۹۰	۱/۳۸۱	۸۳/۳۸۷ $\pm$ ۷/۶۱	۸۹/۹۸۵ $\pm$ ۷/۰۸	هوازی	ng/ml
۰/۰۱*	۲/۶۶۵	۱	۰/۰۰	۰/۱۷۵ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۱۷۵ $\pm$ ۰/۰۳	کنترل	هورمون رشد
		۰/۰۰*	-۳/۷۱۰	۰/۲۸۰ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۲۸۰ $\pm$ ۰/۰۲	هوازی	ng/ml

* تفاوت معنی دار بین پیش آزمون و پس آزمون ($p < ۰/۰۵$)

جدول ۴: نتایج آماری تی همبستگی شاخص توده بدنی، درصد چربی بدن و حداکثر اکسیژن مصرفی پیش و پس ازآزمون

اختلاف درون گروهی		میانگین $\pm$ انحراف معیار		گروه	متغیر
P	T	پس آزمون	پیش آزمون		
۰/۵۷	۰/۵۶۸	۲۴/۲۴ $\pm$ ۱/۸۵	۲۴/۴۲ $\pm$ ۲/۲۲	کنترل	شاخص توده بدنی
۰/۳۴	۰/۹۶۲	۲۳/۹ $\pm$ ۲/۱۶	۲۴/۷۱ $\pm$ ۲/۴۱	هوازی	kg/m ²
۰/۸۲	-۰/۲۲۷	۱۷/۸۳ $\pm$ ۱/۹۶	۱۷/۵۶ $\pm$ ۱/۹۸	کنترل	درصد چربی بدن (%)
۰/۱۰	۱/۶۷	۱۵/۲۳ $\pm$ ۲/۵۹	۱۶/۹۳ $\pm$ ۲/۹۶	هوازی	
۰/۷۲	۰/۳۶۰	۴۰/۴۳ $\pm$ ۲/۲۵	۴۰/۷۲ $\pm$ ۲/۶۳	کنترل	حداکثر اکسیژن مصرفی
۰/۰۰*	-۶/۶۷	۴۴/۹۵ $\pm$ ۱/۵۲	۴۱/۲۸ $\pm$ ۱/۵۱	هوازی	ml/kg/min ¹

* تفاوت معنی دار بین پیش آزمون و پس آزمون ($p < ۰/۰۵$)

بحث

فقدان درد را ایجاد نمایند (۲۱). ترشح بتاندورفین با نوعی نشستگی همراه است، که پس از فعالیت ورزشی فرد احساس سرخوشی می‌کند، به علاوه اثبات شده است که بتاندورفین در تحمل درد، بهتر شدن کنترل اشتها، کاهش اضطراب، تنش، عصبانیت و افسردگی تاثیر دارد (۲۲) مصرف مزمن مخدرهای بیرونی باعث کاهش رهاسازی مخدرهای درونی بدن (بتاندورفین، انکفالین) یا افزایش گیرنده‌های مخدری بدن (گیرنده‌های مو، دلتا، کاپا) می‌شود و بتاندورفین که مواد شبه مخدر درون‌زاد هستند کاهش می‌یابد، زیرا با ورود مواد مخدر خارجی جای شبه مورفین‌های مفید و تولید شده در بدن شخص را می‌گیرند. بنابراین پس از ترک اعتیاد و در حین آن که مواد خارجی به بدن نمی‌رسد و مغز دیگر مواد شبه مورفین درون‌زاد را ترشح نمی‌کند، درد و حالت روحی ناخوش و اضطراب و بی‌قراری در شخص زیاد می‌شود (۲۳). در تحقیقی که توسط Volpe و همکاران بر روی معتادان به هروئین انجام گرفت نشان داده شد که میزان بتا اندورفین در معتادان به هروئین کمتر از افراد عادی بود، حتی وقتی که بیماران به دور از مواد مخدر بودند. این موضوع، با یافته‌های تحقیق حاضر در مورد نتایج اندازه‌گیری بتا اندورفین آزمودنی‌ها قبل از تمرین همخوانی دارد (۲۴). Tamas و همکاران گزارش کردند زمانی غلظت بتاندورفین در حین تمرین شروع به افزایش می‌کند که شدت تمرین بیشتر از ۵۰ درصد Vo_{max} باشد و در بار کم، افزایش بتاندورفین رخ نمی‌دهد مگر مدت تمرین افزایش یابد (۲۵).

یافته‌های تحقیق حاضر افزایش معنی‌داری ۴۹/۴۲ درصدی را در سطح اندورفین معتادان در حال بهبودی پس از هشت هفته تمرین هوازی نشان داد که با تحقیقات Koseoglu و همکاران و Tagashira همخوانی داشت (۱۹ و ۲۰). همچنین با توجه به نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر غلظت کورتیزول استراحتی به میزان ۷/۳۳ کاهش یافت، هر چند این کاهش معنی‌دار نبود اما از آنجا که ترک اعتیاد خود باعث اضطراب می‌شود تمرینات هوازی توانست در کاهش اضطراب معتادان در حال بهبودی موثر و تداوم این‌گونه تمرینات باعث کاهش میزان ترشح هورمون کورتیزول و ایجاد شرایط روحی متعادل در آنان گردد. که با تحقیق Delfan و همکاران همخوانی دارد (۹). از سوی دیگر نسبت سطح هورمون رشد به کورتیزول می‌تواند بیانگر شرایط بدن برای انجام فرایند کاتابولیسم یا آنابولیسم باشد، در نتیجه با توجه به افزایش معنی‌دار ۴۰ درصدی هورمون رشد نسبت به کاهش کورتیزول استراحتی بعد از تمرینات هوازی به نظر می‌رسد تمرین هوازی شرایط آنابولیسم بهتری برای آزمودنی‌ها ایجاد کرده است. لذا نتایج تحقیق بیانگر تاکید برخواص مفید فعالیت‌های هوازی با توجه به اثر مطلوب این تمرینات بر روی معتادان در حال بهبودی جهت استفاده در مراکز درمانی و کلینیک‌های ترک اعتیاد می‌باشد. اندورفین‌ها ترکیب شیمیایی شبه مخدری هستند که فرآورده‌ای پلی پپتیدی بوده و توسط غده هیپوفیز و هیپوتالاموس تولید می‌شوند و مشابه یک ماده تسکین درد، قادر هستند یک حس خوب بودن و

ورزش در درمان وابستگی مشخص نشده است ولی روی تئوری ترشح بتا اندورفین که اپیوئیدهای اندورژن می باشد، تأکید زیادی شده است. علاوه بر این شواهد زیادی وجود دارد محرومیت از ورزش باعث به هم خوردن خلق و خو می شود. در حیوانات آزمایشگاهی نیز مشخص شده است که حیوانات ورزیده نسبت به گروه کنترل، مرفین کمتری مصرف می کنند (۲۶).

نتیجه گیری

با توجه به افزایش سطح بتا اندورفین و هورمون رشد نتایج تحقیق بیانگر این مطلب است که فعالیت های هوازی اثر مطلوبی بر معتادان در حال بهبودی دارد و پیشنهاد می شود که در مراکز درمانی و کلینیک های ترک اعتیاد استفاده شود.

قدردانی

بدینوسیله محققان بر خود لازم می دانند مراتب سپاسگزاری خود را از مسئولان محترم مراکز ترک اعتیاد به جهت همکاری در نمونه گیری و اجرای پژوهش و تمامی افرادی که ما را در امر یاری نمودند، به عمل آورند.

References

- Noori R, Sheikh Saraf B, Fattollahi Shorabeh F, Jalali KH, Faramarzi M. The effects of eight weeks of exercise on changes Leukocytes, fibrinogen, C-reactive protein and cardiorespiratory fitness in sedentary men after leaving drug. *Olympic Journal* 2013; **21**(1): 7-20. (Persian)
- Rajabi R, Mughadas Tabrizi Y. The effects of exercise in preventing relapse of morphine Drug-related in patients treated with methadone. *Preceding studies in exercise physiology and management* 2011; **5**: 35-41. (Persian)
- Roberts A, Roberts R. *The fundamental principles of exercise physiology*. Translated by Gaeini, Samt Pub, Tehran. 2006.
- Nazarali P, Siabi R, Hanachi P. Compare aerobic and on aerobic exercise on plasma levels of endorphins active and inactive girls. *Journal of Sport Biosciences* 2012; **13**: 37-50. (Persian)
- Donnelly J, Hill J, Jacobsen D. Effect of a 16-month Randomized controlled exercise trial on body weight and composition in young, overweight men and women. *Achieves of International Medicine* 2003; **163**(11): 1343-1350. doi: 10.1001/archinte.163.11.1343
- Gaini AA. *Foundations of Exercise Physiology*. Payame Noor published. 2005. (Persian)
- Chow, Yvonne WY, Hector WH T. Biopsychosocial effects of qigong as a mindful exercise for people with anxiety disorders: a speculative review. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* 2007; **13**(8): 831-840. doi: 10.1089/acm.2007.7166
- Sueya YB. The effect of aerobic exercise on anxiety and secretion of cortisol in young male volleyball players. *International Journal of Sport Studies* 2011; **1**(1): 1-3.
- Delfan B, Armanfar S, Armanfar M. Effect of aerobic and on aerobic exercise on anxiety and level of cortisol hormone secretion young wrestlers. *Journal of Research University of Medical Sciences* 2013; **15**: 15-19. (Persian)
- Ghasemi E, Saghebjo M, Dadi Z, Maraki H. Effects of one bout of maximum aerobic physical activity in morning and evening on plasma GH and cortisol levels in young female. *Journal of Sport in Biomotor Sciences* 2012; **3**(1): 38-46. (Persian)
- Yadegari F, heidarianpour A, Nazem F. Effects of regular swimming exercise on the pain threshold following withdrawal syndrome in morphine-dependent rats. *Physiology and Pharmacology* 2011; **15**(2): 288-294. (Persian)
- Hakalae P, Alen M. Beta-endorphin and corticotropic running exercise in male endurance athletes. *Life Sci* 2002; **21**(2): 146-153. doi: 10.1016/0024-3205(88)90158-0

13. Daneshmandi H, Rahmani F, Neshati A. Check the status of physical and aerobic capacity addicts. *Journal of Sports Sciences* 2007; **3**(6): 73-80. (Persian)
14. Michael L, Mestek J, Garner C. Blood lipid response after continuous and accumulated aerobic exercise. *I jnem* 2006; **16**(3): 245-254. doi: 10.1123/ijsnem.16.3.245
15. Banitalebi E, Faramarzi M, Marandi M, Azamian-Jazi A, Mohammadi B. Effect of Exercise on Heart Risk Factors of Addicted Persons after One Year of Quitting Drugs. *GMUHS Journal* 2010; **15**(4): 16-23. (Persian)
16. Gorji H, Miladi, RashidyPour A, Fathollahi Y, Semnani S, Akhavan Maziar M. Effects of voluntary exercise on severity of naloxone precipitated morphine withdrawal signs in rats. *Journal of Semnan University of Medical Sciences* 2010; **1**(37): 86-93. (Persian)
17. Saadipour KH, Sarkaki A, Badavi M, Alaei H. Effect of short-term forced exercise on naloxone induced withdrawal symptoms in morphine addicted male rats. *Armaghane Danesh* 2008; **12**(4): 73-81. (Persian)
18. McMurray R G, Forsythe W A, Mar M H, Hardy C J. Exercise Intensity-Related Responses Of Beta-Endorphin and Catecholamine's. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1987; **19**(6): 570-574. doi: 10.1249/00005768-198712000-00005
19. Koseoglu E, Akboyraz A, soyur. Aerobic exercise and plasma beta-endorphin leves in patients with migrainous headache without aura. *Anesthesiology* 2010; **116**(4): 750-794. doi: 10.1046/j.1468-2982.2003.00624.x
20. Tagashira S, Yamaguchi K, Matsunaga T, Toda K, Hayashi Y. Salivary prekallikrein output during the ranger training-induced stress. *Stress and Health* 2004; **20**(5): 249-253. doi: 10.1002/smi.1024
21. Ghasemi E, Saghebjo M, Dadi Z, Maraki H. Effects of one bout of maximum aerobic physical activity in morning and evening on plasma GH and cortisol levels in young female. *Journal of Sport in Biomotor Sciences* 2012; **5**(1). (Persian)
22. Jamalian Z. Effect of Endorphins during Exercise. *Journal of vitality and Sports* 2007; **4**(7): 21-30.
23. Alaei H, Sharifi M, Hosseini M, Naderi A. Compare short-term and medium-term effects of exercise on the desire to morphine in rats. *Journal of Basic Medical Sciences Iran* 2006; **32**: 272-280. (Persian)
24. Volpe A, Cioni A, Genazzani M. Reduction of beta-endorphin levels in the amniotic fluid of heroin addicts. *Obstet Gynecol* 2002; **68**(5): 606-609. doi: 10.1159/000299022
25. Tamas B, Gyorgy N. The Effect of Physical Therapy on Beta-Endorphin Article. *Eur J Appl Physiol* 2007; **100**: 371-382. doi: 10.1007/s00421 -007-0469-9
26. Jalalvand A, Heidarianpour A, Almasi J. Acute effects of swimming exercise on withdrawal syndrome sign in morphine-dependent rats. *Quarterly Journal of Sabzevar University of Medical Sciences* 2013; **20**(3): 373-379. (Persian)

Original Article

Effects of Circuit Resistance Training with Different Parts of Saffron Supplementation on Testosterone and Cortisol Hormones

Abbass Ghanbari-Niaki^{1*} , Ayoub Saeidi² , Sadegh Ardeshtiri², Mahdi Aliakbari_Baydokhty⁴

¹ Department of Exercise Biochemistry, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

² School of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

³ PhD Student in Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran.

*Corresponding author; E-mail: ghanbara@umz.ac.ir

Received: 28 December 2016 Accepted: 9 March 2017 First Published online: 17 January 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):56-63

Abstract

Background: During recent years, consumption of nutritional supplements has become popular in the athletes to enhance muscle power, function, and hypertrophy. The aim of this study was to investigate the effects of circuit resistance training and saffron supplementation on plasma testosterone and cortisol in young college men.

Methods: 44 healthy male were divided into four groups including: water-training, sweat petals-training, style saffron-training and stigma-training. Resistance training consisted of 12 stations (each station lasts for 30 seconds at 40% of one repetition maximum) for 2 weeks (5 sessions per week). Saffron was used daily, 500 mg twice a day, in the morning and immediately after exercise. Blood samples were taken before and 48 hours after the last session and were used for analysis of testosterone by Elisa kit and cortisol by Elecsys system.

Results: Results showed there is No significant difference in testosterone ($P=0.093$) and cortisol ($P=0.378$) between the groups. Variations inner groups showed significant increase in plasma testosterone levels in all groups ($P<0.05$) and a significant decrease in plasma cortisol levels in group stigma-training ($P<0.038$). Also, significant increases in testosterone to cortisol ratio in groups stigma-training ($P=0.001$) and ($P=0.031$) was observed. But no significant changes in the other groups were observed.

Conclusion: Circuit Resistance training improves the testosterone and cortisol; however this improvement was increased when this training combined with saffron supplements.

Keywords: Circuit Resistance Training, Testosterone, Cortisol, Saffron.

How to cite this article: Ghanbari-Niaki A, Saeidi A, Ardeshtiri S, Aliakbari_Baydokhty M. [Effects of Circuit Resistance Training with Different Parts of Saffron Supplementation on Testosterone and Cortisol Hormones]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February -March;40(6):56-63. Persian.

مقاله پژوهشی

اثر تمرین مقاومتی دایره ای همراه با مکمل سازی بخش های مختلف زعفران
بر هورمون تستوسترون و کورتیزولعباس قنبری نیایکی^{۱*}، ایوب سعیدی^۲، صادق اردشیری^۳، مهدی علی اکبری بیدختی^۳^۱ گروه بیوشیمی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.^۲ دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.^۳ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

*ایمیل نویسنده مسئول: ghanbara@umz.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۸ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۹ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ بهمن و اسفند؛ ۴۰(۶): ۵۶-۶۳

چکیده

زمینه: در طی سال های اخیر استفاده از مکمل های غذایی و طبیعی برای بهبود قدرت، عملکرد و هایپرتروفی در بین ورزشکاران رشته های مختلف رواج زیادی یافته است. هدف تحقیق حاضر، بررسی تاثیر تمرین مقاومتی دایره ای کوتاه مدت با مکمل سازی زعفران بر سطوح هورمون های تستوسترون و کورتیزول است.

روش کار: ۴۴ مرد سالم تمرین نکرده به ۴ گروه آب-تمرین، عرق گلبرگ-تمرین، ته گل-تمرین و سرگل-تمرین تقسیم شدند. تمرین مقاومتی شامل ۱۲ ایستگاه، هر ایستگاه ۳۰ ثانیه با شدت ۴۰٪ یک تکرار بیشینه به مدت ۲ هفته (۵ جلسه در هفته) بود. روزانه ۵۰۰ میلی گرم زعفران در دو وعده صبح و بلافاصله بعد تمرین استفاده شد. نمونه خونی قبل و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین گرفته شد و برای آنالیز تستوسترون به استفاده از الایزا و کورتیزول پلاسما توسط دستگاه الکسیس مورد استفاده قرار گرفت. نتایج با آزمون های آنالیز واریانس دوطرفه، تعقیبی بونفرونی و T وابسته در سطح معنی داری $P < 0.05$ تحلیل شدند.

یافته ها: نتایج تفاوت معنی داری در مقادیر هورمون های تستوسترون ($P = 0.093$) و کورتیزول ($P = 0.342$) بین گروه ها نشان نداد. تغییرات درون گروهی افزایش معنی داری در مقادیر تستوسترون پلاسما در همه گروه های آزمودنی ($P < 0.05$) و کاهش معنی داری در مقادیر کورتیزول پلاسما فقط در گروه سرگل-تمرین ($P = 0.038$) نشان داد. همچنین افزایش معنی داری در نسبت تستوسترون به کورتیزول در گروه های سرگل-تمرین ($P = 0.001$) و عرق گلبرگ-تمرین ($P = 0.031$) مشاهده شد. اما در سایر گروه ها تغییرات معنی داری مشاهده نشد.

نتیجه گیری: تمرین مقاومتی دایره ای باعث بهبود هورمون های تستوسترون و کورتیزول شد اما این بهبود زمانی که همراه با مصرف مکمل زعفران صورت گرفت، بیشتر بود.

کلید واژه ها: تمرین مقاومتی دایره ای، تستوسترون، کورتیزول، زعفران

نحوه استناد به این مقاله: قنبری نیایکی ع، سعیدی ا، اردشیری ص، علی اکبری بیدختی م. اثر تمرین مقاومتی دایره ای همراه با مکمل سازی بخش های مختلف زعفران بر هورمون تستوسترون و کورتیزول. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۵۶-۶۳

حق تألیف برای مؤلف محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتو 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

فعالیت مقاومتی، سازگاری کوتاه مدت و طولانی مدتی را در عضلات اسکلتی به دنبال دارد. پاسخ حاد و اثر ورزش مقاومتی در سطح گردش هر دو هورمون آنابولیک و کاتابولیک بالقوه سودمند است (۱). به نظر می‌رسد که برای افزایش قدرت، توده‌ی عضلانی و بهینه سازی غدد درون ریز تمرینات مقاومتی یک عامل کمکی باشد (۲). همچنین سازگاری با تمرینات مقاومتی کوتاه مدت در یک دوره‌ی پویا اتفاق می‌افتد، که در آن پاسخ‌های عصبی عضلانی و مکانیزیم‌های هورمونی به خواسته‌های خارجی محرک‌های تمرینی به وجود می‌آید. اکثر مطالعات نشان دادند که غلظت هورمون‌های تستوسترون، رشد، کورتیزول و هورمون جنسی متصل به گلوبولین با توجه به شدت تمرینات مقاومتی در مردان و زنان افزایش می‌یابد. علاوه بر این، بارها نشان داده شده است که نسبت تستوسترون به کورتیزول با تنش فیزیولوژیکی اعمال بدن در ارتباط است (۳). ورزش مقاومتی باعث افزایش سطح گردش تستوسترون در بزرگسال می‌شود. آشکار است این افزایش به بعضی عوامل از جمله: حجم توده‌ی عضلانی درگیر، شدت و مدت تمرین، سن، تجربه و دوره‌های استراحت بین تمرین بستگی دارد. به طور کلی استفاده از توده‌ی عضلانی بزرگتر و تمرینات با شدت نسبی بالا برای افزایش غلظت تستوسترون موثر است (۱). با توجه به اثرات زیاد تستوسترون بر عضلات بدن، متأسفانه بسیاری از ورزشکاران به طور گسترده از آن (یا به طور معمول‌تر از یک آندروژن صنعتی) برای بهبود قوای عضلانی خود استفاده می‌کنند که اثرات زیان‌باری را به دنبال دارد (۴). تحقیقات نشان دادند که غلظت کورتیزول تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارد و نشان داده شده است که تمرین با شدت بالا و حجم توده‌ی عضلانی زیاد باعث افزایش غلظت کورتیزول می‌شود (۵-۱۰). به نظر می‌رسد که افزایش تستوسترون و کاهش کورتیزول منجر به ایجاد محیط آنابولیکی در عضله می‌شود. در همین راستا در پژوهشی نشان دادند که تمرینات مقاومتی باعث افزایش غلظت هورمون‌های تستوسترون، رشد و کورتیزول می‌شود (۱۱). همچنین تمرینات مقاومتی باعث یک پاسخ حاد فیزیولوژیک و یک سازگاری مزمن می‌شود که برای افزایش قدرت عضلانی، هایپرتروفی و استقامت عضلانی حیاتی است (۱۲). نسبت تستوسترون به کورتیزول به عنوان شاخص آنابولیک و کاتابولیک عضله اسکلتی در طول تمرین مقاومتی پیشنهاد شده است. در هر صورت افزایش تستوسترون و کاهش کورتیزول یا هر دو حالت بالقوه آنابولیس را نشان می‌دهد. برخی مطالعات تغییرات نسبت تستوسترون به کورتیزول را در تمرینات مقاومتی و قدرتی نشان داده‌اند و بیان کردند که نسبت مثبت تستوسترون به کورتیزول باعث بهبود عملکرد می‌شود (۱۲). در طی سال‌های اخیر استفاده از مکمل‌های غذایی برای بهبود قدرت، عملکرد و هایپرتروفی در بین ورزشکاران رشته‌های مختلف رواج زیادی یافته است. با توجه به اثرات جانبی بسیاری از مکمل‌هایی که به صورت شیمیایی تهیه و تولید می‌شود، توجه بسیاری از متخصصان تغذیه به سوی

داروهای گیاهی و سستی معطوف شده است. زعفران در طب سنتی کاربردهای متنوعی از قبیل محرک قوای جنسی، ضد اسپاسم، ضد افسردگی و التهاب داشته و از آن در درمان بسیاری از اختلالات وسیعی همچون بیماری‌های قلبی-عروقی و ضایعات مغزی استفاده می‌شود. عصاره‌ی زعفران شامل ترکیبات زیادی از جمله: α -کروسستین (α -crocetin) یک کاروتنوئید محلول در آب، کروسین (Crocine)، دی‌کروسین (Dicrocine)، تری‌کروسین (Tricrocine)، پیکروکروسین (Picrocrocine) و سافرانال (safranal) است (۱۳، ۱۴). محققین نشان دادند که تزریق درون صفاقی عصاره زعفران به مدت ۲۰ روز در موش‌های نر بالغ باعث افزایش معنی دار تستوسترون، هورمون محرک فولیکولی (Follicle-stimulating hormone) و هورمون لوتئینی (Luteinizing Hormone) شد که وجود اسیدهای چرب غیر اشباع و آنتی اکسیدان‌های موجود در زعفران باعث افزایش این مقادیر شد (۱۵). همچنین در یک بررسی بالینی نشان داده شد که مصرف کپسول تنتکس رویال که شامل پودر زعفران و چند گیاه دیگر بود باعث افزایش هورمون‌های جنسی از جمله تستوسترون می‌شود (۱۶). با توجه به خواص زعفران و تأثیر آن بر هورمون‌های جنسی و از طرفی تمرینات مقاومتی که بر هورمون‌های آنابولیک و کاتابولیک تأثیر گذار است، اثرات همزمان تمرین مقاومتی و مکمل زعفران هنوز مورد بررسی قرار نگرفته است. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که بخش قابل ملاحظه‌ای از پژوهش‌های مرتبط با زعفران و اثرات آن بیشتر بر بخش‌های گیاهی یعنی سرگل یا کلاله یا استیگما و تعداد کمی نیز بر گلبرگ این گیاه تمرکز نموده‌اند. با این وجود اطلاعاتی درباره تأثیر بخش تحتانی (کنج یا ته گل) بر متغیرهای بیوشیمیایی یا اثرات دارویی-پزشکی آن وجود ندارد. از سویی دیگر تأثیر بخش‌های مختلف گیاه زعفران بر سطوح هورمون‌های تستوسترون و کورتیزول و بر روی نسبت تستوسترون به کورتیزول نامشخص است. لذا تحقیق حاضر طراحی شد تا تأثیر تمرین مقاومتی دایره‌ای (۱۲ ایستگاهی) کوتاه مدت را با مصرف گیاه زعفران بر سطوح هورمون‌های تستوسترون و کورتیزول در مردان جوان دانشگاهی مورد بررسی قرار دهد.

روش کار

تحقیق حاضر از نوع نیمه تجربی و میدانی می‌باشد. پژوهش حاضر در کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران به ثبت رسید. ۸۰ نفر دانشجوی دانشگاه مازندران بعد از دادن فراخوان در دانشگاه و خوابگاه نواب صفوی، به صورت داوطلبانه حاضر به شرکت در این مطالعه شدند. ۴۴ نفر واجد شرایط با میانگین وزنی 70.1 ± 8.51 ، قد 175.36 ± 4.6 ، سن 21.18 ± 1.72 و نمایه توده بدن 21.82 ± 2.76 کیلوگرم بر مترمربع در این تحقیق انتخاب شدند. قبل از شرکت در تحقیق، کلیه مراحل و روش کار برای آنها توضیح داده شد و پس از آگاهی کامل و تکمیل پرسشنامه پزشکی با روابی ($T=0.93$)، رضایتنامه کتبی از آنها گرفته شد. شرایط ورود

استراحت فعال انجام دادند. نمونه گیری خون از ورید بازویی افراد صبح بعد از ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی در دو مرحله ۴۸ ساعت قبل از شروع تمرینات و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین گرفته شد. نمونه ها در لوله های آزمایش حاوی EDTA ریخته شد و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد سپس پلاسما جدا شده برای آنالیز هورمون های تستوسترون و کورتیزول استفاده شد. برای اندازه گیری هورمون ها از دستگاه الکسیس (Elecsys 2010 HITACHI Roche, مدل: ۲۰۲۰؛ ساخت: مشترک کشورهای آلمان و ژاپن) استفاده شد. تستوسترون پلاسما با روش الایزا (ELISA) (ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه گیری به ترتیب ۳/۱٪ و ۰/۰۷ نانوگرم در میلی لیتر) با استفاده از کیت تشخیص تستوسترون انسان (شرکت IBL با کد RE52151؛ ساخت آلمان) تعیین شد. کورتیزول پلاسما با روش الایزا (ELISA) (ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه گیری به ترتیب ۲/۱٪ و ۲/۴۶ نانوگرم در میلی لیتر) با استفاده از کیت تشخیص کورتیزول (شرکت IBL با کد RE52061؛ ساخت آلمان) تعیین شد. پس از تایید توزیع نرمال داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، جهت مقایسه بین گروه ها از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. جهت تعیین تغییرات درون گروهی از آزمون T وابسته استفاده شد. کلیه تجزیه و تحلیل ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ صورت گرفت و از نظر آماری $P < 0/05$ معنی دار تلقی گردید.

یافته ها

به ترتیب نتایج آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همچنین آزمون لون نشان داد که نتایج از توزیع نورمال و همگنی واریانس ها برخوردار هستند ($P > 0/05$). تحلیل آماری آنالیز بین گروهی تغییر معنی داری را بین گروه های مختلف در سطوح هورمون تستوسترون نشان نداد ($P = 0/093$, $F = 2/286$) (نمودار ۱). آزمون T وابسته افزایش معنی داری بین داده های قبل و بعد تمرین در گروه های آب-تمرین ($P = 0/040$)، عرق گلبگ-تمرین ($P = 0/007$)، ته گل-تمرین ($P = 0/048$) و سرگل-تمرین ($P < 0/001$) نشان داد (جدول ۲). تحلیل آماری آنالیز بین گروهی تفاوت معنی داری بین گروه ها در سطوح هورمون کورتیزول نشان نداد ($P = 0/342$, $F = 1/146$) (نمودار ۲). آزمون T وابسته کاهش معنی داری بین داده های قبل و بعد گروه سرگل-تمرین ($P = 0/038$) نشان داد؛ اما در گروه های آب-تمرین ($P = 0/197$)، عرق گلبگ-تمرین ($P = 0/189$) و ته گل-تمرین ($P = 0/248$) اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲). تحلیل آماری آنالیز واریانس دوطرفه تغییر معنی داری بین گروه ها در نسبت تستوسترون به کورتیزول نشان نداد ($P = 0/638$, $F = 0/570$) (نمودار ۳). آزمون T وابسته افزایش معنی داری بین داده های قبل و بعد گروه های عرق گلبگ-تمرین ($P = 0/031$)، سرگل-تمرین ($P = 0/001$) نشان داد؛ اما در گروه های آب-تمرین ($P = 0/142$) و ته گل-تمرین ($P = 0/154$) اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۱).

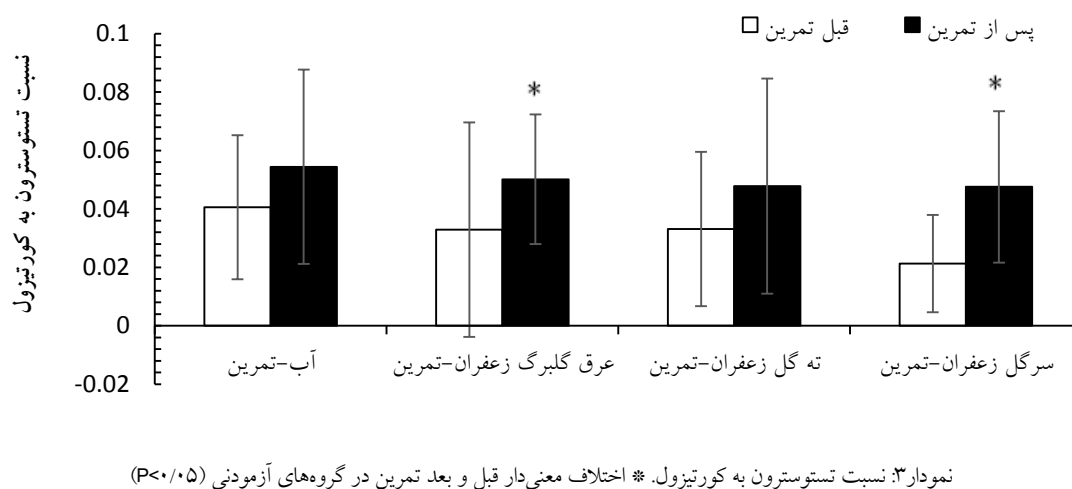
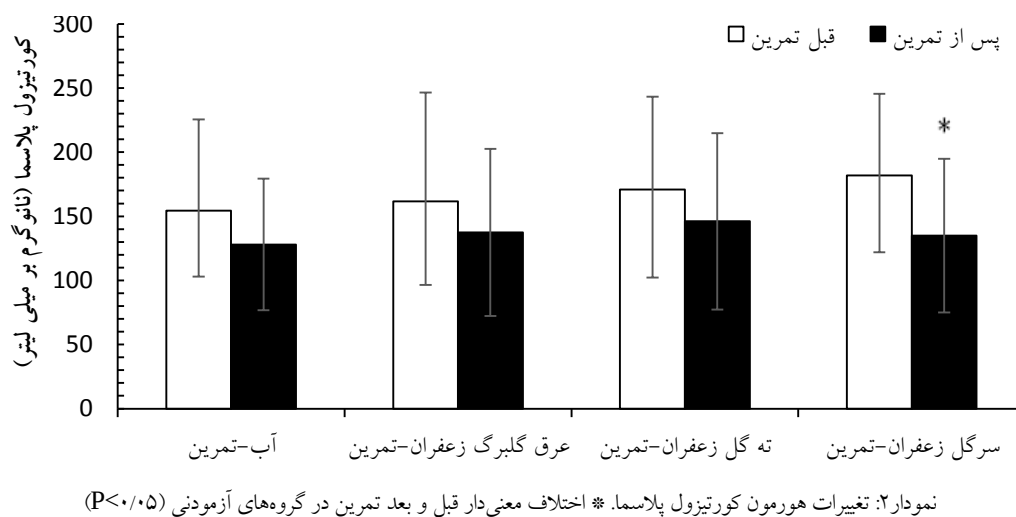
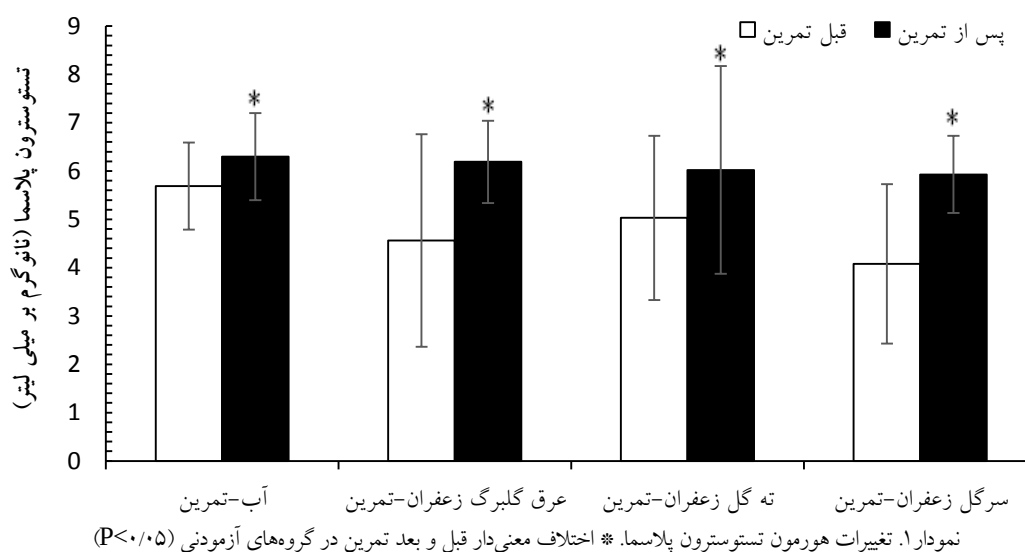
به اجرای تحقیق شامل عدم اعتیاد به مواد مخدر و الککل، نداشتن سابقه فعالیت ورزشی منظم حداقل به مدت ۶ ماه، فاقد سابقه بیماری کلیوی، کبدی، قلبی-عروقی، دیابت یا هرگونه آسیب با مشکل جسمی بود. سپس به صورت همسان به ۴ گروه (۱) آب-تمرین (۱۱ نفر)، (۲) عرق گلبگ زعفران-تمرین (۱۰ نفر)، (۳) ته گل زعفران-تمرین (۱۱ نفر)، (۴) سرگل زعفران-تمرین (۱۲ نفر) تقسیم شدند. به ترتیب آزمودنی های گروه ته گل-تمرین و سرگل-تمرین مقدار ۵۰۰ میلی گرم ته گل زعفران و سرگل زعفران را طی دو مرحله، پس از صبحانه یک کپسول (۲۵۰ میلی گرم) و بلافاصله پس از تمرین کپسول دوم (۲۵۰ میلی گرمی) را به همراه ۱۰۰ میلی لیتر آب دریافت کردند. گروه عرق گلبگ زعفران ۱۰۰ میلی لیتر عرق زعفران را در دو نوبت بعد از صبحانه و بلافاصله بعد از تمرین با دارونما (کپسول ۲۵۰ میلی گرمی) و گروه آب ۱۰۰ میلی لیتر آب را در دو نوبت بعد از صبحانه و بلافاصله بعد از تمرین با دارونما (کپسول ۲۵۰ میلی گرمی) مصرف نمودند. آزمودنی ها همگی ساکن خوابگاه نواب صفوی دانشگاه مازندران بودند که از غذای سلف یکسان استفاده می کردند و از طرفی به آزمودنی ها تاکید شد که دو روز قبل از خونگیری پیش آزمون و پس آزمون غذای یکسان و مشخص مصرف کنند.

برای انجام خونگیری شرایط زیر الزامی بود:

۱. عدم استفاده از دارو یا مکمل در طول انجام تحقیق.
 ۲. عدم تغییر رژیم غذایی حداقل دو روز قبل از انجام آزمایش.
 ۳. عدم انجام فعالیت ورزشی غیر از تمرینات پژوهش در طول تحقیق حداقل ۷۲ ساعت قبل از انجام آزمایش.
 ۴. عدم مصرف قهوه، چای پررنگ، موز، غلات و غذای سنگین و چرب حداقل ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش.
- دستورالعمل تمرین نیز به گونه ای بود که قبل از انجام تمرین مقاومتی دایره ای، ابتدا آزمودنی ها با محیط کار آشنا و طی سه جلسه مجزا برای تعیین 1RM حرکات مورد نظر به محل تمرین مراجعه نمودند. طی این سه جلسه مقادیر 1RM حرکات اسکوات، پرس سینه هالتر، ساق پا دستگاه، سر شانه هالتر، پرس پا دستگاه، قایقی دستگاه، جلو پا دستگاه، جلو بازو سیم کش، پشت پا دستگاه، پشت بازو سیم کش، اکستنشن تنه، دراز و نشست به دو روش آزمون و خطا و نیز با استفاده از معادله برزیسکی محاسبه شد (۱۷، ۱۸). 1RM با استفاده از معادله برزیسکی:

$$1RM = \frac{\text{وزنه جابه جا شده (kg)}}{0.0278 \times (\text{تعداد تکرار تا خستگی}) - 1.0278}$$

آزمودنی ها این حرکات را با ۴۰ درصد 1RM میانگین با سرعت متوسط به مدت دو هفته (۵ جلسه در هفته) ساعت ۱۷ الی ۱۹ انجام دادند. هر جلسه تمرین شامل ۵ دقیقه گرم کردن و سپس انجام حرکات ۱۲ گانه بدون توقف بین ایستگاه ها و مدت انجام هر ایستگاه ۳۰ ثانیه بود (۱۹). تعداد تکرار در هر ایستگاه برای آزمودنی ها ثبت شد. دو جلسه اول یک نوبت تمرین انجام شد. از جلسه سوم آزمودنی ها تمرین را دو نوبت و بین هر نوبت سه دقیقه



جدول ۱: انحراف استاندارد $\pm$ میانگین شاخص های اندازه گیری شده در گروه های مختلف. تغییرات درون گروهی. † نشانه معنی داری.

متغیر	گروه	قبل از تمرین	بعد از تمرین	P درون گروهی
کورتیزول (نانوگرم/ میلی لیتر)	آب-تمرین	۱۵۴/۳۷ $\pm$ ۴۳/۷۵	۱۲۸/۰۲ $\pm$ ۳۵/۹۶	۰/۱۹۷
	عرق گلبرگ-تمرین	۱۶۹/۴۲ $\pm$ ۶۷/۶۵	۱۳۷/۴۶ $\pm$ ۶۱/۲۶	۰/۱۸۹
	ته گل-تمرین	۱۷۵/۴۱ $\pm$ ۵۷/۹۳	۱۴۶/۱۳ $\pm$ ۴۹/۴۰	۰/۲۴۸
	سرگل-تمرین	۲۲۰/۰۵ $\pm$ ۹۰/۴۷	۱۳۴/۹۵ $\pm$ ۳۸/۶۵	۰/۰۳۸†
تستوسترون (نانوگرم/ میلی لیتر)	آب-تمرین	۵/۶۹ $\pm$ ۰/۶۱	۶/۳۰ $\pm$ ۰/۵۲	۰/۰۴۰†
	عرق گلبرگ-تمرین	۴/۵۶ $\pm$ ۱/۷۱	۶/۱۹ $\pm$ ۰/۵۶	۰/۰۰۷†
	ته گل-تمرین	۵/۰۳ $\pm$ ۱/۱۲	۶/۰۲ $\pm$ ۱/۰۷	۰/۰۴۸†
	سرگل-تمرین	۴/۰۸ $\pm$ ۱/۱۸	۵/۹۳ $\pm$ ۰/۵۷	۰/۰۰۰†
نسبت تستوسترون به کورتیزول	آب-تمرین	۰/۰۴ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۰۵ $\pm$ ۰/۰۴	۰/۱۴۲
	عرق گلبرگ-تمرین	۰/۰۳ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۰۵ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۰۳۱†
	ته گل-تمرین	۰/۰۳ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۰۴ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۱۵۴
	سرگل-تمرین	۰/۰۲ $\pm$ ۰/۰۰۸	۰/۰۴ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۰۰۱†

بحث

پرداختن به فعالیت بدنی باعث تغییر در غلظت هورمون ها می-شود. تمرینات مقاومتی محرک اصلی برای افزایش غلظت هورمون ها است (۲۰). به طور کلی پذیرفته شده است که تمرین استقامتی تمایل به کاهش تستوسترون در حالت استراحت و تمرین مقاومتی تمایل به افزایش آن دارد. تمرینات مقاومتی باعث افزایش سطح پایه تستوسترون و کاهش سطح پایه کورتیزول می شود (۲۱). مطالعاتی در ارتباط با تاثیر تمرین مقاومتی به همراه مکمل دهی گیاه زعفران بر پاسخ هورمون های تستوسترون و کورتیزول وجود ندارد یا بسیار اندک است. نتایج پژوهش حاضر در خصوص تستوسترون پلازما اختلاف معنی داری بین گروه ها نشان نداد؛ اما تغییرات درون گروهی در همه گروه ها بعد تمرین افزایش معنی داری نشان داد که با نتایج Hosseinikakhak و همکاران که به بررسی تاثیر حاد دو برنامه تمرین مقاومتی با سرعت آهسته و سریع بر هورمون تستوسترون پرداختند (۲۲) و همچنین با مطالعه Safarzadeh و همکاران که به بررسی تاثیر تمرین مقاومتی بر روی هورمون تستوسترون و رشد افراد بالای ۱۸ سال و زیر ۱۸ سال پرداختند (۲۳)، همخوانی دارد. از طرفی با پژوهش شیخ الاسلامی و بردبار (۲۰۱۲) که به بررسی تاثیر مکمل سازی ZAM (Zinc Magnesium Aspartate Supplement)، به تنهایی و به صورت ترکیب با کربوهیدرات، همراه با شش هفته تمرین مقاومتی بر هورمون تستوسترون پرداختند (۲۴)، ناهمسو می باشد. تستوسترون آندروژن اصلی بدن و تاثیر گذار در انواع پارامترهای بدن از جمله ترکیب بدن، عضله، متابولیسم و عملکرد، سنتز پروتئین و توده ی عضلانی می باشد. این پارامترها با توانایی انجام فعالیت های ورزشی همراه است (۲۵). هورمون آزاد کننده ی گنادوتروپین از هیپوتالاموس با تاثیر بر هیپوفیز پیشین، موجب افزایش ترشح FSH و LH و در نتیجه موجب تحریک ترشح تستوسترون می شود. افزایش هورمون تستوسترون نشان دهنده تاثیر

تمرین مقاومتی و عصاره زعفران بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه است. زعفران به عنوان یک چاشنی غذایی به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد و اثرات دارویی آن بر روی هورمون های استروئیدی و جنسی به خوبی شناخته شده است. زعفران اثرات ویژه ای در سیتیک هورمون های استروئیدی به خصوص تستوسترون دارد. مصرف زعفران باعث رشد سلول های غده هیپوفیز و در نتیجه باعث افزایش ترشح هورمون های تستوسترون می شود. اثرات آنتی اکسیدانی زعفران در بیوستز هورمون های استروئیدی می تواند باعث تاثیر در غلظت هورمون های جنسی مردان شود (۱۵). در پژوهش حاضر مقادیر کورتیزول پلازما تغییرات معنی داری بین گروه ها نشان نداد، اما کاهش معنی داری بعد تمرین نسبت به قبل تمرین در گروه سرگل-تمرین مشاهده شد که با نتایج Hakkinen و همکاران که ۲۱ هفته تمرین مقاومتی هیچ تغییر معنی داری در سطوح کورتیزول سرم در گروه زنان مبتلا به روماتوئید و گروه زنان سالم نیافتند (۲۶)، همسو می باشد. از طرفی نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش Rafie و همکاران که به بررسی مقایسه اثر شش هفته تمرین مقاومتی و تمرین هم زمان مقاومتی و استقامتی بر سطوح استراحتی هورمون رشد و کورتیزول پرداختند (۲۷)، همسو نبود. احتمالاً عدم کاهش کورتیزول پس از تمرین به دلیل نوع، مدت و شدت تمرین مقاومتی دایره ای استفاده شده می تواند باشد. از طرفی احتمالاً زعفران به دلیل داشتن کاروتنوئیدهای فراوان به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی باعث کاهش عوامل التهابی از جمله هورمون کورتیزول می شود و کاهش هورمون کورتیزول در اثر افزایش حذف کورتیزول در گردش یا کاهش فعالیت هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH) (Adrenocorticotrophic Hormone) می تواند صورت گیرد (۲۷، ۲۸). در پژوهش حاضر نسبت تستوسترون به کورتیزول اختلاف معنی-داری بین گروه ها نشان نداد، اما بعد تمرین نسبت به قبل تمرین در

اثر تمرین مقاومتی و افزایش تستوسترون و کاهش کورتیزول شد. این تمرین در واقع به مانند تمرینات مقاومتی سستی می تواند اثرات خود را بر روی سیستم هورمونی بدن بگذارد.

قدردانی

نویسندگان این مقاله از همکاری آزمودنی های پژوهش حاضر که با صبر و حوصله، محققان را در فرآیند پژوهش یاری رساندند، قدردانی می نمایند. همچنین از آزمایشگاه پاتوبیولوژی و تشخیص طبی آذرمیدخت قهاری برای انجام کارهای آزمایشگاهی نهایت تشکر و سپاس را داریم. لازم به ذکر است مقاله بر گرفته از پایان نامه و به شماره پایان نامه ۱۱۹۱۸۳ می باشد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته علمی دانشگاه مازندران استان مازندران به شماره مرجع ۲۱۷۴۴۳۵ به تایید رسیده است.

منافع متقابل

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

مشارکت مؤلفان

عباس قنبری-نیاکی، ایوب سعیدی و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج و همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده اند.

گروه های عرق گلبرگ-تمرین و سرگل-تمرین افزایش معنی داری مشاهده شد که با نتایج Sourati و همکاران که به بررسی تاثیر تمرین مقاومتی و استقامتی بر نسبت تستوسترون به کورتیزول پرداختند (۲۹)، و همچنین با نتایج پژوهش Azarbayjani و Saiedi که به بررسی تاثیر ترکیب تمرین مقاومتی همراه و بیریشن تمام بدن بر نسبت تستوسترون به کورتیزول پرداختند (۳۰)، همسو می باشد. از نسبت تستوسترون به کورتیزول برای ارزیابی پاسخ به تمرین و پیشگویی ظرفیت عملکردی افراد استفاده می شود؛ زمانی که این نسبت بالا باشد، نشان دهنده شرایط آنابولیک است و زمانی که ۳۰ درصد یا بیشتر کاهش یابد، نشان دهنده شرایط کاتابولیک در بدن است. عدم افزایش نسبت تستوسترون به کورتیزول در گروهی که فقط تمرین مقاومتی دایره ای انجام دادند به این دلیل است که فعالیت برای آزمودنی ها خیلی خسته کننده نبود و خستگی متابولیک را سبب نشده است (۲۹). اما تمرین همراه با مکمل زعفران باعث افزایش نسبت تستوسترون به کورتیزول بعد از تمرین شده است. این یافته نشان می دهد که کاروتنوئیدهای زعفران اثرات آنتی اکسیدانی دارد و بر روی بیوستز هورمون های استروئیدی و کاهش عوامل التهابی موثر است که در نهایت باعث بوجود آمدن شرایط آنابولیک برای محیط عضله می شود (۲۸). با این حال برای رسیدن به یک پاسخ جامع در این باره تحقیقات بیشتری در این زمینه لازم است.

نتیجه گیری

تمرین مقاومتی دایره ای باعث افزایش هورمون تستوسترون شد اما بر هورمون کورتیزول تاثیر نداشت. تمرین مقاومتی دایره ای همراه با مصرف مکمل گیاه زعفران به ویژه سرگل زعفران باعث تقویت

References

1. Fry A, Lohnes C. Acute testosterone and cortisol responses to high power resistance exercise. *Human physiology* 2010; **36**(4): 457-461. doi: 10.1134/s0362119710040110
2. Fragala M S, Kraemer W J, Denegar C R, Maresh CM, Mastro AM, Volek JS. Neuroendocrine-immune interactions and responses to exercise. *Sports Medicine* 2011; **41**(8): 621-639. doi: 10.1134/s0362119710040110
3. Kraemer W J, Volek J S, Bush J A, Putukian M, Sebastianelli W J. Hormonal responses to consecutive days of heavy-resistance exercise with or without nutritional supplementation. *Journal of Applied Physiology* 1998; **85**(4): 1544-1555. doi: 10.1152/jappl.1998.85.4.1544
4. Chapman I M, Visvanathan R, Hammond A J, Morley J E, Field J B, Tai K, et al. Effect of testosterone and a nutritional supplement, alone and in combination, on hospital admissions in undernourished older men and women. *The American journal of clinical nutrition* 2009; **13**(12): 26538. doi: 10.3945/ajcn.2008.26538
5. Hoffman J R, Ratamess N A, Ross R, Shanklin M, Kang J, Faigenbaum A D. Effect of a pre-exercise energy supplement on the acute hormonal response to resistance exercise. *The Journal of Strength & Conditioning Research* 2008; **22**(3): 874-882.
6. Raastad T, Bjørø T, Hallen J. Hormonal responses to high-and moderate-intensity strength exercise. *European journal of applied physiology* 2000; **82**(1-2): 121-128. doi: 10.1007/s004210050661
7. Hesar NGZ, Witvrouwb E, Peersman W, Roosen P, Van Ginckel A, Braems G, et al. Influence of Menstrual Cycle Phase on Motor Competence. *international journal of applied science in physical education* 2016; **1**(1): 62-73.
8. Jalalian Z, Fallah M. Investigating Cathepsin S, Cystatin C. Changes in Girls with Weight Loss; Effects of Resistance Training with Medicago sativa (Alfalfa)

- Extract Consumption. *International Journal of Applied Science In Physical Education* 2016; **1**(1): 41-50.
9. Boroushak N, Anbarian M. A comparison of Hamstring/Quadriceps Muscular Strength Ratio in Elite karate Athletes Before and After Muscular Fatigue. *International Journal of Applied Science In Physical Education* 2016; **1**(1): 11-17.
 10. Saedmocheshi S, Zareian P. Response of Physiological Indices Associated with Fatigue to Consumption Acute of Sodium Bicarbonate Supplementation Loading Along with Exhaustive Activity in the Soldiers. *International Journal of Applied Science In Physical Education* 2016; **1**(1): 51-61.
 11. Budnar Jr RG, Duplanty A A, Hill D W, McFarlin B K, Vingren J L. The acute hormonal response to the kettlebell swing exercise. *The Journal of Strength & Conditioning Research* 2014; **28**(10): 2793-2800.
 12. Kraemer W J, Ratamess N A. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. *Sports Medicine* 2005; **35**(4): 339-361. doi: 10.2165/00007256-200535040-00004
 13. Cossignani L, Urbani E, Simonetti M S, Maurizi A, Chiesi C, Blasi F. Characterisation of secondary metabolites in saffron from central Italy (Cascia, Umbria). *Food chemistry* 2014; **14**(3): 446-451. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.08.020
 14. Ghaffari S, Hatami H, Dehghan G. The Effect of Ethanolic Extract of Saffron (*Crocus sativus* L.) on Oxidative Stress Markers in the Hippocampus of Experimental Models of MS. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services* 2015; **37**(1): 40-49.
 15. Modaresi M, Messripour M, Asadi Marghmaleki M, Hamadanian M. Effect of Saffron (*Crocus Sativus*) extract on level of FSH, LH and testosterone in mice. *ZUMS Journal* 2008; **16**(63): 11-18.
 16. Garg S K. Clinical evaluation of tentex royal in erectile dysfunction. *Antiseptic* 2002; **99**(5): 161-162.
 17. Brzycki M. Strength testing-predicting a one-rep max from reps-to-fatigue. *Journal of Physical Education, Recreation & Dance* 1993; **64**(1): 88-90. doi: 10.1080/07303084.1993.10606684
 18. Mayhew J L, Johnson B D, LaMonte M J, Lauber D, Kemmler W. Accuracy of prediction equations for determining one repetition maximum bench press in women before and after resistance training. *The Journal of Strength & Conditioning Research* 2008; **22**(5): 1570-1577.
 19. Ghanbari-Niaki A, Saeidi A, Aliakbari-Beydokhti M, Ardeshiri S, Kolahdouzi S, Chaichi MJ, et al. Effects of Circuit Resistance Training with *Crocus Sativus* (Saffron) Supplementation on Plasma Viscosity and Fibrinogen. *Annals of Applied Sport Science* 2015; **3**(2): 1-10. doi: 10.1519/jsc.0b013e31817b02ad
 20. Gentil P, Oliveira E, Bottaro M. Time under tension and blood lactate response during four different resistance training methods. *Journal of physiological anthropology* 2006; **25**(5): 339-344.
 21. Tremblay M S, Copeland J L, Van Helder W. Effect of training status and exercise mode on endogenous steroid hormones in men. *Journal of Applied Physiology* 2004; **96**(2): 531-539. doi: 10.1152/japplphysiol.00656.2003
 22. Hosseiniakha Sa, Jaberi S M, Hamedinia M. acute effects of two resistance exercise protocols with moderate intensity, equal volume and slow and fast movements on some anabolic and catabolic hormones. *Sport Biosciences* 2014; **6**(2): 205-218.
 23. Safarzadeh S, Malandish A. effects of resistance training on the acute responses of testosterone and growth hormone in under 18 and over 18 yr old man. *Sport Physiology* 2012; **4**(15): 135-149. doi: 10.1016/j.jsams.2012.11.352
 24. Sheikholeslami-Vatani DB, S. The impact of necessary supplements with carbohydrate alone and in combination with the six-week resistance training on anabolic hormones and cellular damage indices in untrained men. *Journal Olympic* 2012; **3**(59): 59-72.
 25. Koundourakis N E, Androulakis N, Spyridaki E C, Castanas E, Malliaraki N, Tsatsanis C, et al. Effect of different seasonal strength training protocols on circulating androgen levels and performance parameters in professional soccer players. *Hormones* 2014; **13**(1): 578-583. doi: 10.1007/bf03401326
 26. Hakkinen A, Pakarinen A, Hannonen P, Kautiainen H, Nyman K, Kraemer W, et al. Effects of prolonged combined strength and endurance training on physical fitness, body composition and serum hormones in women with rheumatoid arthritis and in healthy controls. *Clinical and Experimental Rheumatology* 2005; **23**(4): 505-512.
 27. Rafie M, Shavandi N, Saremi A, Abdolmaleki A. comparison the effects of 6 weeks of resistance training and concurrent training on aerobic power and resting levels of growth hormone and cortisol in healthy children. *Arak Medical University Journal* 2014; **3**(85): 38-46.
 28. Ghanbari Niaki A, Ardeshiri S, AliakbariBaydokhty M, Saeidi A. Effects of Circuit Resistance Training with *Crocus sativus* Supplementation on Insulin and Estradiol Hormones Response. *The Horizon of Medical Sciences* 2016; **22**(2): 125-130. doi: 10.18869/acadpub.hms.22.2.125
 29. Sourati J d, Attarzadeh Hsr, Sayadpour Z D, Ahmadi A, Mansouri J. Comparison of resistance and endurance exercises on testosterone to cortisol ratio in post-menopausal women. *Daneshvar Medicine* 2012; **19**(97): 73-83.
 30. Azarbayjani M A, Saiedi A. Comparison of the effect of resistance training, whole body vibration and their combination on testosterone to cortisol ratio in young male football players. *Rehabilitation Medicine* 2014; **2**(2): 34-46. doi: 10.1097/00005768-200305001-01793

Original Article

Frequency and analysis of gene expression of *norA* and *norB* efflux pump in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* using Ethidium bromide and Real Time PCR

Amir Mirzaie^{1*} , Hassan Noorbazargan² , Kamal Paseban³, Seyed Ataollah Sadat Shandiz⁴

¹Department of Biology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

²Department of Biotechnology, School of Advanced Technologies in Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Department of Genetic, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

⁴Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding author; E-mail: A.mirzaie@riau.ac.ir

Received: 4 January 2017 Accepted: 12 February 2017 First Published online: 17 January 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):64-73

Abstract

Background: Ciprofloxacin resistance in *Staphylococcus aureus* strains due to efflux pumps has become a significant challenge. This study was performed to evaluate the frequency and gene expression of *norA* and *norB* efflux pump genes and their role in resistance to ciprofloxacin in clinical isolates of *S. aureus*.

Methods: In this experimental study, a total of 250 clinical samples were collected from different hospitals in Tehran and *S. aureus* isolates were identified. Antimicrobial susceptibility patterns were determined by disk diffusion method based on CLSI standard. The presence of *norA* and *norB* efflux pump genes in ciprofloxacin isolates were detected using PCR method. Finally, active efflux pump was evaluating using MIC of ciprofloxacin-Ethidium bromide and Real Time PCR method.

Results: Among 250 clinical samples, 50 *S. aureus* isolates were recovered and the results of antibiotic susceptibility tests show that 34 out of 50 *S. aureus* isolates (68%) were resistant to methicillin (MRSA) and from the 34 MRSA, 12 isolates (24%) were resistant to ciprofloxacin. Moreover, the *norA* and *norB* genes were found in 100 % and 83% in isolates, respectively. Real Time PCR results show that more resistant strains had increased expression in *norA* and *norB* efflux genes.

Conclusion: The potential role played by *norA* and *norB* efflux pumps in the development of resistance to ciprofloxacin in clinical isolates of *S. aureus* and the detection of these genes could be important for suggestion of an effective treatment model for the *S. aureus* infections.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Efflux pump, *norA*, *norB*, Real Time PCR.

How to cite this article: Mirzaie A, Noorbazargan H, Paseban K, Sadat Shandiz S A. [Frequency and analysis of gene expression of *norA* and *norB* efflux pump in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* using Ethidium bromide and Real Time PCR]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March;40(6):64-73. Persian.

مقاله پژوهشی

فراوانی و آنالیز بیان ژن های پمپ افلاکس *norA* و *norB* در سویه های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس توسط روش اتیدیوم بروماید و Real Time PCR

امیر میرزایی^{۱*}، حسن نوربازرگان^۲، کمال پاسبان^۳، سید عطا اله سادات شانديز^۴

^۱گروه زیست شناسی، واحد روده، دانشگاه آزاد اسلامی، روده، ایران.
^۲گروه بیوتکنولوژی، دانشکده فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.
^۳گروه ژنتیک، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.
^۴گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول؛ ایمیل: A.mirzaie@riau.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۵ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۴ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ بهمن و اسفند؛ ۴۰(۶): ۶۴-۷۳

چکیده

زمینه: اخیراً مقاومت به سیروفلوکساسین در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یکی از چالش های مهم مطرح می باشد. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی و بیان ژن های پمپ افلاکس *norA* و *norB* در سویه های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس و ارزیابی نقش آن ها در مقاومت به سیروفلوکساسین بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۵۰ نمونه بالینی از بیمارستان های مختلف شهر تهران جمع آوری شد و ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شدند. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی بر اساس روش دیسک دیفیوژن و استاندارد CLSI انجام گرفت. همچنین، حضور ژن های *norA* و *norB* در سویه های مقاوم به سیروفلوکساسین با روش PCR مشخص گردید. در نهایت پمپ های افلاکس از نظر فعال بودن توسط MIC سیروفلوکساسین و اتیدیوم بروماید و Real Time PCR بررسی شد.

یافته ها: از میان ۲۵۰ نمونه بالینی، تعداد ۵۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شد و نتایج حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که ۶۸٪ از نمونه ها (۳۴ نمونه) مقاوم به متی سیلین و از میان اینها ۲۴٪ (۱۲ نمونه) مقاوم به سیروفلوکساسین بودند. فراوانی ژن های *norA* و *norB* در سویه های مقاوم به سیروفلوکساسین به ترتیب ۱۰۰٪ و ۸۳٪ بودند و هم چنین سویه های مقاوم تر میزان بیان بالاتری از ژن *norA* و *norB* داشتند. **نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد که پمپ های افلاکس *norA* و *norB* در ایجاد مقاومت به سیروفلوکساسین نقش اساسی دارند و بررسی حضور این ژن ها می تواند در پیشنهاد الگوی درمانی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس حائز اهمیت باشد.

کلید واژه ها: استافیلوکوکوس اورئوس، پمپ افلاکس، *norA*، *norB*، Real Time PCR.

نحوه استناد به این مقاله: میرزایی، نوربازرگان، پاسبان، ک، سادات شانديز س.ع. فراوانی و آنالیز بیان ژن های پمپ افلاکس *norA* و *norB* در سویه های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس توسط روش اتیدیوم بروماید و Real Time PCR. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۶۴-۷۳

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

استافیلوکوکوس اورئوس یک باکتری پاتوژن از خانواده میکروکوکاسه است که به عنوان یک باکتری بیماری زای شایع در مراقبت‌های بیمارستانی در سرتاسر جهان است. قسمت قدامی بینی منبع اولیه استافیلوکوکوس اورئوس در بین افراد بزرگسال و کودکان می‌باشد و ۲۰ تا ۴۰٪ افراد سالم جامعه حامل این باکتری می‌باشند که به عنوان عامل اصلی عفونت‌های استافیلوکوکی به حساب می‌آید (۱). این باکتری دامنه وسیعی از بیماری‌ها از قبیل پنومونی، عفونت‌های پوستی، اندوکاردیت، استئومیلیت و بسیاری از بیماری‌های دیگر را بوجود می‌آورد (۲). استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) یکی از عوامل فرصت طلب بیماری‌زای بیمارستانی می‌باشد و مقاومت به متی‌سیلین از طریق تولید یک پروتئین اختصاصی اتصال به پنی‌سیلین به نام PBP2a ایجاد می‌شود که توسط ژن *mecA* رمزگذاری می‌شود. سویه‌های MRSA تا امروزه به بسیاری از عوامل ضد باکتریایی مقاوم شده‌اند و این امر موجب محدودیت‌های درمان بیماری‌های ناشی از این باکتری شده است (۳). داروهای فلوروکینولون مانند سیپروفلوکساسین یکی از داروهای مناسب و جایگزین برای درمان بیماری‌های ناشی از سویه‌های MRSA استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد (۴). با این وجود، به دنبال تجویز این دارو جهت درمان این باکتری‌ها، مقاومت به این آنتی‌بیوتیک نیز رخ داده است به طوری که در برخی از موارد میزان مقاومت به ۱۰۰٪ رسیده است (۵). مکانیسم‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس متفاوت است که یکی از مکانیسم‌ها ممانعت از تجمع دارو درون سلول به وسیله سیستم‌های افلاکس می‌باشد. پمپ‌های افلاکس، مواد سمی مانند آنتی‌بیوتیک را به محیط خارج پمپ می‌کنند (۶-۸) و به طور کلی پمپ‌های افلاکس باکتریایی بر اساس ترادف و شباهت اسیدهای آمینه در پنج گروه اصلی قرار می‌گیرند (۹-۱۱). پمپ‌های افلاکس از نظر بالینی بطور موثری در ارتباط با گروه‌های Nodulation Division (RND) یا Major Facilitator Super Family (MFS) می‌باشند که با آزادسازی انرژی نیرو محرکه پروتون در خارج کردن آنتی‌بیوتیک نقش دارند (۱۲). سیستم افلاکس MFS یکی از سیستم‌های مهم افلاکس در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد که پمپ افلاکس *norA* یکی از پمپ‌های مهم این خانواده است و مطالعات مختلفی نشان می‌دهد که *norA* می‌تواند ترکیبات مختلفی مانند فلوروکینولون‌های هیدروفوب از قبیل نورفلوکساسین، سیپروفلوکساسین، اتیدیم بروماید و ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم را به سمت بیرون پمپ کند (۱۳). همچنین محققان نشان دادند که ژن *norA* دارای یک بیان پایه در درون سلول می‌باشد که باعث ایجاد کمی مقاومت به ترکیبات آنتی‌بیوتیکی می‌شود. افزایش مقاومت به فلوروکینولون‌ها با افزایش بیان پمپ افلاکس *norA*

ارتباط دارد (۱۴). پمپ افلاکس *norB* نیز یکی دیگر از پمپ‌های MFS در استافیلوکوکوس اورئوس و دارای ۴۶۳ اسید آمینه می‌باشد و باعث ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولون و بیوسایدها می‌شود و مطالعات نشان می‌دهد که این پمپ در افزایش بیماری‌زایی این باکتری نیز حایز اهمیت است (۱۵). از نقطه نظر درمانی، اولین داروی مناسب برای درمان باکتری‌های MRSA، آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین می‌باشد و امروزه بزرگترین چالش و نگرانی در بیمارستان‌ها، ایجاد عفونت‌های بیمارستانی توسط باکتری‌های فرصت طلب استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد که به هر دو آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین و سیپروفلوکساسین مقاوم شده‌اند (۱۶). از آنجایی که تاکنون مطالعات کمی در مورد نقش پمپ افلاکس در مقاومت بخشی به سیپروفلوکساسین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس در ایران انجام شده است، این مطالعه با هدف تشخیص مولکولی وجود ژن‌های پمپ افلاکس *norA* و *norB* بیان آن‌ها در سویه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس و ارزیابی نقش آن در ایجاد مقاومت به سیپروفلوکساسین انجام گرفت.

روش کار

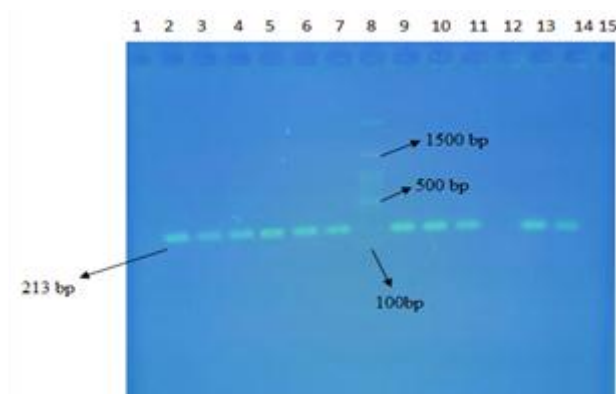
این مطالعه تجربی از فروردین تا تیر ماه ۱۳۹۵ با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق انجام گرفت، بطوریکه در مجموع تعداد ۲۵۰ نمونه بالینی مختلف نظیر زخم، خلط، ادرار، مایع نخاعی و مایع مفصل طی ۴ ماه از بیمارستان‌های مختلف شهر تهران به روش تصادفی جمع‌آوری گردید. ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از آزمایش‌های کاتالاز، رنگ آمیزی گرم، کواگولاز، تخمیر مانیتول و DNase تشخیص قطعی داده شدند. در نهایت از تمامی سویه‌ها در محیط نوترینت براث حاوی ۱۵٪ گلیسرول کشت ذخیره تهیه و در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. پس از حصول اطمینان از شناسایی و تایید سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، حساسیت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن بر اساس استاندارد CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) مورد بررسی قرار گرفت (۲۱). حساسیت جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفوکسیتین (۱۰ میکروگرم)، ونکومايسين (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، اریترومايسين (۱۵ میکروگرم)، تری‌متوپریم (۲۵ میکروگرم)، آمیکاسین (۱۵ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، کلرامفنیکول (۳۰ میکروگرم) و کلیندامایسین (۲ میکروگرم) (MAST, UK) در محیط کشت Muller Hinton agar (مرک)

آلمان) انجام گرفت. لازم به ذکر است که جهت تشخیص مقاومت به متی سیلین (MRSA)، از دیسک آنتی بیوتیکی سفوکسیتین استفاده شد (۱۷). در تمامی انجام آزمایش ها، سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۳۳۹۵۱ به عنوان کنترل مثبت مقاوم به متی سیلین (حاوی ژن *mecA*) و از سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳ به عنوان کنترل مثبت مقاوم به سیپروفلوکساسین (حاوی ژن *norA* و *norB*) و از استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس ATCC ۱۲۲۲۸ به عنوان کنترل منفی استفاده شد. استخراج DNA به روش دستی (فنل کلروفرم) انجام شد. بطور خلاصه، به رسوب تهیه شده از کشت باکتری های MRSA مقاوم به سیپروفلوکساسین، به ترتیب ۶۰۰ میکرولیتر بافر لیز (Tris-HCl, pH7.4; EDTA)، ۱۳ میکرولیتر سدیم دودسیل سولفات (۲۵٪ SDS)، ۳ میکرولیتر پروتئیناز K (۲۰mg/ml) اضافه شده و آن را در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. به دنبال آن ۶۰۰ میکرولیتر محلول فنل-کلروفرم - ایزوآمیل الکل (به نسبت ۱:۲۴:۲۵ تهیه شده) افزوده تا یک فاز شیری رنگ یکنواخت تشکیل شود. سپس با دور ۱۳۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و فاز بالایی (فاز آبی) به لوله های جدید منتقل شد. این مرحله دوبار تکرار شده و به منظور رسوب DNA، هم حجم فاز آبی اتانول سرد و خالص به همراه ۰/۱ میکرولیتر استات سدیم (1M) اضافه کرده و به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرار داده شد. بعد از آن، لوله مورد را سانتریفیوژ (۵ دقیقه ۱۳۰۰ دور) نموده و رسوب حاصله را پس از خشک کردن و حل کردن در بافر به عنوان DNA مورد استفاده قرار گرفت و در نهایت برای تأیید صحت استخراج ژنوم از الکتروفورز ژل آگاروز ۱٪ استفاده شد. واکنش PCR برای ژن *mecA* در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ میکرولیتر از DNA استخراج شده به عنوان الگو، ۰/۵ میکرولیتر از پرایمر رفت (۱۰ پیکومول)، ۰/۵ میکرولیتر از پرایمر برگشت (۱۰ پیکومول)، ۱۲/۵ میکرولیتر از مستر میکس (سینازن، ایران)، ۱۰/۵ میکرولیتر آب از مقطر دو بار تقطیر انجام گرفت. در ادامه واکنش PCR برای ژن *mecA* با استفاده از پرایمرهای F و TCCAGATTACAACCTTCACCAGG و R CCACTTCATATCTTGTAACG (۱۸)، ژن *norA* با پرایمرهای F ATCGGTTTAGTAATACCAGTCTTGC و R GCGATATAATCATTTGAGATAACGC (۱۹) و ژن *norB* با پرایمرهای F AGCGCGTTGTCTATCTTTCC و R GCAGGTGGTCTTGCTGATAA (۲۰). لازم به ذکر است برنامه دمایی مورد استفاده شده در جدول ۱ انجام گرفت.

همچنین برای تکثیر ژن *norA* و *norB* از پرایمرها و برنامه زمانی ذکر شده در جدول ۱ استفاده شد بطوری که واکنش PCR در

حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مستر میکس (سینازن، ایران)، ۱۰۰ نانوگرم از DNA استخراج شده به عنوان الگو، ۵ پیکومول از پرایمر رفت و برگشت، ۱۰/۵ میکرولیتر آب از مقطر دو بار تقطیر انجام گرفت. بعد از تعیین سویه های MRSA مقاوم به سیپروفلوکساسین، این سویه ها جهت تست MIC (Minimum Inhibitory Concentration) مورد مطالعه قرار گرفتند. آزمایش MIC بر اساس CLSI به روش رقیق سازی در میکروپلیت برای سیپروفلوکساسین، اتیدیوم بروماید انجام شد. MIC به صورت سه بار تکرار با استفاده از روش میکرودایلوشن در پلیت های ۹۶ خانه ای انجام شد. محلول اتیدیوم بروماید را به داخل چاهک A ریخته و با محیط کشت مولر هیتون برات (MHB) تا حجم ۱۰۰ میکرولیتر می رسانیم. به چاهک های بعدی تا H مقدار ۵۰ میکرولیتر محیط MHB اضافه می کنیم و از چاهک اول به ترتیب ۵۰ میکرولیتر به چاهک ها تا H اضافه می کنیم تا رقت سازی متوالی انجام گیرد (۲۵۰-۲ μg/ml). همه چاهک ها با مقدار ۵۰ میکرولیتر از کشت میکروبی سویه های مقاوم به سیپروفلوکساسین با غلظت نیم مک فارلند اضافه می کنیم. مقدار MIC به عنوان کمترین غلظت مهارکننده رشد باکتری محسوب می شود. لازم به ذکر است که جهت تعیین غلظت MIC سیپروفلوکساسین، از غلظت ۱ تا ۱۲۸ میکروگرم در میلی لیتر و از چاهک حاوی باکتری استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳، فاقد سیپروفلوکساسین و اتیدیوم بروماید به عنوان کنترل منفی و از چاهک حاوی باکتری استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳ سیپروفلوکساسین و اتیدیوم بروماید به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۲۱). این تست همانند روش تعیین غلظت MIC انجام شد؛ بطور خلاصه، ابتدا غلظت MIC اتیدیوم بروماید را تعیین کرده و غلظت ۰/۵ مک فارلند از کشت باکتری را به داخل چاهک های حاوی غلظت های پایین تر از MIC اتیدیوم بروماید اضافه می کنیم. به دنبال آن، ترکیب CCCP (carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone) به عنوان مهارکننده پمپ افلاکس در غلظت ۲۰ μg/ml اضافه می شود. پمپ افلاکس فعال زمانی تشخیص داده می شود که MIC اتیدیوم بروماید به همراه CCCP از MIC اتیدیوم بروماید به تنهایی کمتر باشد. لازم به ذکر است در یکی از چاهک ها، از CCCP به همراه باکتری استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳ (مقاوم به سیپروفلوکساسین) به منظور تشخیص اینکه خود CCCP کشنده نیست، به عنوان کنترل منفی و از چاهک حاوی باکتری استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳، CCCP و اتیدیوم بروماید به عنوان کنترل مثبت استفاده کردیم (۲۲). جهت استخراج RNA، سویه های مقاوم به سیپروفلوکساسین به مدت ۲۴ ساعت در محیط کشت مولر هیتون برات در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در مجاورت غلظت sub MIC از سیپروفلوکساسین کشت دادند. به

زخم بیشتر از سایر سویه‌ها بود. برای بررسی مولکولی وجود ژن مقاومت به متی‌سیلین از تکثیر ژن *mecA* استفاده شد و با توجه به طراحی پرایمرها انتظار باند ۱۶۲ جفت باز داشتیم. نتایج نشان داد که توزیع ژن *mecA* در نمونه‌های استافیلوکوکی در ۶۸٪ نمونه‌ها (۳۴ نمونه) وجود داشت. لازم به ذکر است میزان شیوع ژن *mecA* در نمونه‌های استافیلوکوکوس/اورئوس جداسازی شده از نمونه‌های زخم بیشتر از سایر نمونه‌ها بود بطوری‌که از ۳۰ نمونه، ۱۵ نمونه متعلق به نمونه‌های زخم بود (آزمون آماری χ^2 ($P < 0.032$)). همچنین، به منظور بررسی وجود ژن پمپ افلاکس *norA* در سویه‌های استافیلوکوکوس/اورئوس جداسازی شده، از پرایمرهای اختصاصی این ژن استفاده شد و انتظار وجود باند ۱۱۲ bp داشتیم که شکل آن در ژل الکتروفورز مشاهده شد. ژن *norA* در تمامی سویه‌های MRSA مقاوم به سیپروفلوکساسین دیده شد (۱۲ نمونه). لازم به ذکر است که ارتباط معناداری بین وجود ژن *norA* ژن *mecA* در بین سویه‌ها وجود نداشت ($P > 0.05$). تکثیر ژن پمپ افلاکس *norB* در ایزوله‌های استافیلوکوکوس/اورئوس، وجود باند ۲۱۳ bp را در ژل الکتروفورز نشان داد (شکل ۱). ژن *norB* در ۸۳٪ از نمونه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین وجود داشت (۱۰ نمونه) که بین وجود ژن *norA* و *norB* ارتباط معناداری وجود داشت (آنالیز آزمون آماری χ^2 ($P < 0.05$)).



شکل ۱. نتایج تکثیر ژن *norB* چاهک ۱: کنترل منفی، چاهک ۲: کنترل مثبت، چاهک های ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۳ و ۱۴: نمونه‌های مثبت، ۸: ماکر + ۱۰۰، ۱۲ و ۱۵: نمونه های منفی.

نتایج حاصل از MIC و فعالیت CCCP در جدول ۲ آمده است. همانطور که مشخص است MIC سیپروفلوکساسین در سویه‌ها از محدوده ۲۵۰-۱۵/۶۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بود و در مجاورت مهارکننده پمپ افلاکس CCCP میزان MIC سیپروفلوکساسین و اتیدیوم بروماید کاهش یافته است که نشان دهنده فعال بودن پمپ افلاکس در سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین می‌باشد.

دنبال آن، استخراج RNA با استفاده از کیت استخراج RNA (کیژن، امریکا) بر طبق دستورالعمل انجام گرفت و در انتها از آنزیم DNase جهت حذف DNA های باقیمانده استفاده شد. در ادامه، RNA استخراج شده توسط نانودراپ تعیین غلظت شد. مقدار یک میکروگرم RNA از نمونه جهت سنتز cDNA با استفاده از کیت Quanti Tect Reverse Transcription kit (کیژن، امریکا) استفاده شد. به منظور بررسی ارزیابی بیان ژن پمپ افلاکس *norA* از روش Real Time PCR کمی نسبی (qRT-PCR) با استفاده مستر میکس حاوی سایبرگرین (Applied Biosystem، انگلستان) انجام گرفت. مواد مورد استفاده در حجم ۲۰ میکرولیتر مستر میکس شامل ۲ میکرولیتر از cDNA، ۱۰ پیکومول از پرایمرهای رفت و برگشت، ۱۰ میکرولیتر از مستر میکس حاوی سایبر گرین بود که در دستگاه Bioneer کره انجام گرفت. برنامه دمایی مورد استفاده در qPCR شامل ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجه سانتیگراد ۱۵ ثانیه، ۱ دقیقه دمای ۶۰ درجه سانتیگراد بود که در ۴۰ سیکل انجام شد (۱۹). همچنین ژن *gmk* (گوانیلات کیناز) به عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. در انتها بیان نسبی ژن *norA* توسط روش $\Delta\Delta Ct$ محاسبه شد. لازم به ذکر است پرایمرهای مورد استفاده برای ژن *gmk* (F- 3'-TATCAGGACCATCTGGAGTAGG-3' و R 3'-CATCAACTTCACCTTCACGC) بوده و توالی پرایمر ژن های *norA* و *norB* در جدول ۱ آمده است. محاسبه آماری این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گردید و داده های PCR با آزمون آماری χ^2 و داده‌های Real Time PCR با آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت. $P < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر قرار گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه در مجموع ۲۵۰ نمونه که از نمونه‌های ادرار، خون، پوست و زخم جداسازی شدند، با استفاده از تست‌های میکروبی رنگ‌آمیزی گرم، محیط مانیتول سالت آگار، محیط بردپارکر، تست کاتالاز، تست کواگولاز، ۵۰ نمونه استافیلوکوکوس/اورئوس جداسازی شد. نتایج حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که ۳۴ جدایه از ۵۰ جدایه مورد بررسی (۶۸٪) نسبت به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین مقاوم بودند و به عنوان سویه‌های MRSA در نظر گرفته شدند. در این مطالعه ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس/اورئوس نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک های پنی‌سیلین (۹۸٪)، آمپی‌سیلین (۹۰٪)، آموکسی‌سیلین و تری‌متوپریم (۸۶٪)، سفوکسیتین (۶۸٪) و کمترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین (۷۴٪ حساس) و کلیستین (۱۰۰٪) بودند. در مجموع میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های جداسازی شده از نمونه‌های ادرار و

بیان نسبی ژن های پمپ افلاکس *norA* و *norB* در ایزوله های مقاوم به سیپروفلوکساسین تیمار شده با غلظت زیر حد مهارکنندگی (SubMIC) عصاره توسط روش Real Time PCR مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که سویه های مختلف با میزان مقاومت های مختلف به سیپروفلوکساسین، بیان ژن *norA* متفاوتی دارند، به صورتی که سویه های مقاوم تر میزان بیان نسبی

بالتری نسبت به سویه های کمتر مقاوم داشتند و از نظر آماری (One way ANOVA) تفاوت معناداری بین میزان بیان ژن های *norA* و *norB* در مقایسه با بیان ژن *gmk* به عنوان ژن کنترل وجود داشت ($P < 0.05$). لازم به ذکر است که واکنش Real Time PCR به صورت سه بار تکرار انجام شد و نتایج بیان ژن های *norA* و *norB* به همراه انحراف از معیار در جدول ۳ ارایه شده است.

 جدول ۱. شرایط دمایی و زمانی واکنش PCR برای ژن های *norA*، *mecA* و *norB*

ژن مورد بررسی	زمان و دمای دناتوراسیون اولیه (دقیقه / سانتیگراد)	زمان و دمای دناتوراسیون ثانویه (ثانیه و سانتیگراد)	زمان و دمای اتصال پرایمرها (ثانیه و سانتیگراد)	زمان و دمای پلیمیزاسیون (ثانیه و سانتیگراد)	زمان و دمای پلیمیزاسیون نهایی (دقیقه و سانتیگراد)	تعداد سیکل
<i>mecA</i>	۵ و ۹۴	۵۰ و ۹۴	۶۰ و ۵۰	۵۰ و ۷۲	۵ و ۷۲	۳۰
<i>norA</i>	۴ و ۹۴	۵۰ و ۹۴	۶۰ و ۳۰	۶۰ و ۷۲	۴ و ۷۲	۳۰
<i>norB</i>	۵ و ۹۴	۹۴ و ۵۰	۵۵ و ۳۰	۷۲ و ۶۰	۷۲ و ۵۰	۳۰

جدول ۲. تعیین میزان غلظت مهارکنندگی سیپروفلوکساسین، اتیدیوم بروماید، CCCP و ترکیب آنها در سویه های مقاوم به سیپروفلوکساسین

شماره سویه	MIC (میکروگرم/میلی لیتر)			
	سیپروفلوکساسین	اتیدیوم بروماید	CCCP + اتیدیوم بروماید	سیپروفلوکساسین + CCCP
۷	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵
۹	۱۵/۶۲	۷/۸۱	۳/۹	۷/۸۱
۳۱	۳۱/۲۵	۷/۸۱	۷/۸۱	۳۱/۲۵
۳۲	۶۲/۵	۱۵/۶	۳/۹	۳۱/۲۵
۳۳	۱۲۵	۶۲/۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵
۳۴	۲۵۰	۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵
۴۳	۳۱/۲۵	۱۵/۶۲	۷/۸	۱۵/۶۲
۴۵	۳۱/۲۵	۷/۸۱	۱/۹۵	۱۵/۶۲
۴۶	۱۵/۶۲	۷/۸۱	۳/۹	۳/۹
۴۷	۶۲/۵	۱۵/۶۲	۷/۸۱	۱۵/۶
۴۸	۳۱/۲۵	۷/۸۱	۷/۸۱	۷/۸۱
۵۰	۲۵۰	۱۲۵	۱۲۵	۱۲۵
ATCC ۲۵۹۲۳	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۷/۸۱	۳۱/۲۵

 جدول ۳. میزان بیان ژن های *norA* و *norB* در سویه های مقاوم به سیپروفلوکساسین.

شماره سویه	ژن <i>gmk</i>	ژن <i>norA</i>	ژن <i>norB</i>
۷	۱	۱۸۰/۵۸±۰/۲۳	۱۴۰/۰۲±۰/۴۶
۹	۱	۱۴/۵۷±۰/۸۱	۰
۳۱	۱	۳۵/۷۷±۰/۵۲	۲۵/۵۵±۰/۶۱
۳۲	۱	۱۸/۴۴±۰/۱۶	۰
۳۳	۱	۱۱۴/۹۱±۰/۸۳	۹۵/۵۶±۰/۲۲
۳۴	۱	۴۰۰/۳۱±۰/۱۳	۳۲۰/۷۷±۰/۴۷
۴۳	۱	۱۴/۵۷±۰/۶۳	۵/۶±۰/۸۴
۴۵	۱	۲۰/۳۲±۰/۱۹	۱۵/۳۳±۰/۵۵
۴۶	۱	۱۵/۲۳±۰/۴۸	۱۵/۱۱±۰/۷۶
۴۷	۱	۴۰/۰۸±۰/۳۹	۳۳/۵۹±۰/۳۲
۴۸	۱	۶۲/۸۲±۰/۴۷	۵۱/۲۳±۰/۲۳
۵۰	۱	۲۰۰/۱۵±۰/۶۲	۱۹۰/۲۲±۰/۵۱
ATCC ۲۵۹۲۳	۱	۱۱/۵۲±۰/۶۴	۱۰/۱۵±۰/۹۹
ATCC ۱۲۲۲۸	۱	۰	۰

بحث

در این مطالعه ۲۰٪ از نمونه‌های بالینی جمع‌آوری شده آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند و نتایج حاصل از حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به پنی‌سیلین (۹۸٪) و کمترین مقاومت مربوط به ونکومايسين و کلیستین بود. همچنین ۶۸٪ سویه‌ها مقاوم به متی‌سیلین و ۲۴٪ سویه‌ها مقاوم به سیپروفلوکساسین بودند. مطالعات مختلفی جهت بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های بالینی *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شده است. در مطالعه‌ای که سال ۱۳۸۴ بر روی ۷۰ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام گرفت نشان داد که ۵۰٪ نمونه‌های مذکور نسبت به سفوکسیتین مقاوم بوده (MRSA) و بررسی الگوی آنتی‌بیوتیکی مشخص گردید که مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالا در میان سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند پنی‌سیلین (۱۰۰٪)، تراسایکلین (۷۴/۲٪)، کوتریموکسازول (۶۸/۵٪)، اریترومايسين (۶۸/۵٪) و سفنازیدیم (۵۱/۴٪) مشاهده گردید (۲۱). مطالعه Moradi و همکاران در سال ۱۳۹۰ بر روی ۱۰۴ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که بیشترین میزان حساسیت نسبت به ونکومايسين ۹۶/۲٪، کلرامفنیکل ۸۸/۲٪، ریفامپین ۸۱/۷٪ بوده و میزان مقاومت سویه‌ها به سفوکسیتین ۴۰/۴٪ (MRSA) می‌باشند (۲۲). در مطالعه ما میزان مقاومت به متی‌سیلین ۶۸٪ گزارش شد و مقایسه دو مطالعه فوق و سایر گزارشات صورت گرفته در زمینه بررسی شیوع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین با مطالعه ما افزایش مقاومت به متی‌سیلین را نشان می‌دهد که یکی از دلایل افزایش مقاومت به متی‌سیلین در سالهای اخیر ممکن است به دلیل مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. بالا بودن میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به متی‌سیلین در بین سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* ایجاد کننده عفونت‌های بالینی پیشنهاد کننده بررسی مکانیسم‌های دخیل در ایجاد مقاومت و بررسی فعالیت ضد میکروبی داروهای جدید در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند به روند درمان مؤثر این عفونت‌ها کمک نماید. همانطور که اشاره شد سویه‌های MRSA یکی از پاتوژن‌های مهم بیمارستانی می‌باشد که به سرعت در سرتاسر جهان شیوع پیدا کرده‌اند. این ارگانیسم به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مقاوم شده است و جایگزین‌های کمی برای درمان آن وجود دارد (۲۳). یکی از جایگزین‌های درمانی آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین از خانواده کوئینولون‌ها می‌باشد. اما مطالعات جدید نشان‌دهنده افزایش مقاومت به این آنتی‌بیوتیک نیز بوده است. در این مطالعه از میان ۳۴ سویه MRSA، ۱۲ سویه مقاوم به سیپروفلوکساسین (۲۴٪) بودند که نشان دهنده شروع مقاومت به سیپروفلوکساسین در میان سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* باشد. در سال‌های اخیر مقاومت بالا به کوئینولون‌ها در سویه‌های MRSA گزارش شده است. در ایالات متحده در نیویورک، شیوع سویه‌های MRSA

مقاوم به سیپروفلوکساسین سه ماه بعد از استفاده از سیپروفلوکساسین ایجاد شده است (۲۴). مکانیسم مقاومت به کوئینولون‌ها در باکتری‌ها مقاومت متفاوت است. در باکتری اشرشیا کلی، مکانیسم مقاومت ناشی از تغییر ساختار آنزیمی DNA جیراز می‌باشد (۲۵). همانطور که پیشتر اشاره شد، یکی از مکانیسم‌های مقاومت به سیپروفلوکساسین در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، وجود پمپ‌های افلاکس می‌باشد. این پمپ‌ها باعث دفع و تراوش طیف گسترده‌ای از مواد شامل آنتی‌بیوتیک‌ها، ترکیبات آنتی‌سپتیک، رنگ‌ها و دترژنت‌ها می‌شوند و بنابراین در ایجاد مقاومت چند دارویی نقش بسزایی دارند. بررسی‌های مختلفی در زمینه شناسایی فنوتیپی و ژنوتیپی پمپ‌های افلاکس در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شده است. Pourmand و همکاران در سال ۲۰۱۴، وجود ژن پمپ افلاکس *norA* و بیان آن را در سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که ژن *norA* در تمامی سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین وجود دارد و بیان ژن آن در مجاورت بیوساید هگزاهیدروکوئینولون افزایش می‌یابد (۱۹). در مطالعه دیگری Saiful و همکاران در سال ۲۰۰۸ پمپ‌های افلاکس *norA* را در سویه‌های MRSA نشان دادند که از ۱۹ سویه MRSA جداسازی شده، ۱۶ سویه دارای ژن *norA* هستند و تمامی سویه‌ها دارای پمپ‌های افلاکس فعال بودند (۲۶). در مطالعه ما نقش پمپ افلاکس *norA* و *norB* که از خانواده MFS که در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد، به صورت فنوتیپی و ژنوتیپی مورد مطالعه قرار گرفت. بطوریکه تمام سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین دارای ژن *norA* و ۸۳٪ از ایزوله‌ها دارای ژن *norB* بودند و از نظر فنوتیپی تمامی سویه‌ها دارای پمپ افلاکس فعال بودند که نشان دهنده تایید وجود ژن‌های پمپ افلاکس در سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین می‌باشد. همچنین در این مطالعه، به منظور بررسی فعالیت پمپ افلاکس *norA* و *norB* و برای تعیین اینکه آیا مقاومت به سیپروفلوکساسین ناشی از پمپ افلاکس است یا خیر، فعالیت پمپ افلاکس توسط بررسی MIC سیپروفلوکساسین، در حضور و عدم حضور مهارکننده پمپ افلاکس CCCP و اتیدیوم بروماید انجام شد. بدین ترتیب که سویه‌های مقاوم به آنتی‌سیپروفلوکساسین و دارای پمپ افلاکس *norA* و *norB* تحت تاثیر غلظت‌های مختلف از CCCP و اتیدیوم بروماید قرار گرفتند و میزان MIC آن‌ها مشخص گردید. نتایج نشان داد که میزان MIC اتیدیوم بروماید سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در مجاورت با CCCP به میزان ۱ تا ۴ برابر کاهش یافت. این امر نشان‌دهنده فعالیت ضد پمپ افلاکسی CCCP و فعال بودن آن‌ها بود. بدین صورت که CCCP فعالیت پمپ افلاکس *norA* و *norB* را متوقف کرده و اتیدیوم بروماید در غلظت‌های کمتری توانایی از بین بردن باکتری‌ها را دارد. کاهش

نتایج این مطالعه نشان داد که پمپ افلاکس *norA* یکی از مکانیسم های مهم مقاومت به آنتی بیوتیک های فلوروکینولون ها مانند سیپروفلوکساسین می باشد اما نباید نقش سایر عوامل و مکانیسم های دخیل در مقاومت نادیده گرفته شود. در نهایت پیشنهاد می شود که مطالعات جدید برای تولید و گسترش مولکول های مهارکننده افلاکس نیاز می باشد. توسعه مهارکننده های پمپ افلاکس از جمله عصاره های گیاهی به امکان کنترل خطر سویه های مقاوم به حاوی پمپ های افلاکس خواهد گردید. همچنین پیشنهاد می گردد که عصاره سایر گیاهان دارویی به صورت سینرژیک مورد مطالعه قرار گیرند.

قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه با شماره ۱۵۷۳۰۵۰۷۹۵۲۰۱۰ عنوان فراوانی و آنالیز بیان ژن های *norA* و *norB* در سویه های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس در سال ۱۳۹۵ است که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال اجرا شده است و از تلاش همکاران بخصوص جناب آقای حسن رحمتی تشکر و قدرانی می نمایم.

ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه به دلیل عدم استفاده از نمونه های انسانی ملاحظه اخلاقی وجود نداشت.

منابع مالی

حمایت مالی از این مطالعه تحقیقاتی توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال صورت گرفته است.

منافع متقابل

نویسندگان این مقاله اظهار می دارند که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله وجود ندارد.

مشارکت مولفان

ا. میرزایی و ح. نوربازرگان و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مقاله را بر عهده داشتند. همچنین ا. میرزایی و توکلی. ز نسخه نهایی مقاله را خوانده و تایید نموده اند.

میزان MIC اتیدیوم بروماید در سویه های مختلف ممکن است فقط از طریق اثرات مهارکنندگی پمپ افلاکس توسط CCCP نباشد بلکه ممکن است از سایر مسیرها مانند منقذهای غشایی مانند پورین ها میزان MIC را تغییر دهند. همچنین، همانطور که در بخش نتایج اشاره شد، در حضور CCCP میزان MIC اتیدیوم بروماید کاهش می یابد که منطبق با نتایج سایر مطالعات می باشد که نشان دهنده این موضوع است که پمپ افلاکس مسئول ایجاد مقاومت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین است. در تایید نتایج تحقیق حاضر، Saiful و همکاران در سال ۲۰۰۸ به ارتباط معنادار بین میزان بیان پمپ افلاکس *norA* و میزان MIC اتیدیوم بروماید رسیدند. همچنین این محققان نشان دادند که افزایش بیان پمپ افلاکس *norA* یک مکانیسم رایج کاهش حساسیت به متی سیلین در این باکتری می باشد (۲۶). Huet AA و همکاران در سال ۲۰۰۸، تعداد ۹ سویه MRSA مقاوم به سیپروفلوکساسین را از نظر وجود و بیان پمپ های افلاکس مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه ابتدا این ژن ها با استفاده از روش Real Time PCR تشخیص داده شد و بیان این ژن ها در مجاورت غلظت های پایین بیوسایدها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که پمپ های افلاکس *norA* و *norB* در تمامی سویه ها وجود داشته و بیان آن ها در مجاورت بیوسایدها افزایش می یابد (۲۷). مقایسه نتایج این مطالعه با مطالعه ما نشان می دهد که ژن *norA* و *norB* در بیشتر سویه های مقاوم به سیپروفلوکساسین وجود دارد و احتمالاً مقاومت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس را به سیپروفلوکساسین ایجاد می کند. در سویه های فاقد ژن *norB* ولی مقاوم به سیپروفلوکساسین، احتمالاً مکانیسم های دیگری از قبلی غیرفعال سازی دارو، تغییر جایگاه هدف همراه با سایر پمپ های افلاکس بر ایجاد مقاومت به سیپروفلوکساسین دخیل است. Costa و همکاران در سال ۲۰۱۳، پمپ های افلاکس را در ۵۲ سویه مقاوم به سیپروفلوکساسین با استفاده از اتیدیوم بروماید مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که پمپ های افلاکس نقش مهمی را در کاهش مقاومت به آنتی بیوتیک ها و همچنین بیوسایدها دارد (۲۸). همچنین در مطالعه ما ارتباط بین تست فنوتیپی (اتیدیوم بروماید) و ژنوتیپی (وجود ژن های پمپ افلاکس) پمپ افلاکس همانند دو مطالعه فوق نشان داده شد بطوری که تمامی سویه هایی که از نظر ژنوتیپی حاوی ژن های پمپ افلاکس بودند از نظر فنوتیپی نیز دارای پمپ افلاکس فعال بودند.

نتیجه گیری

References

1. Sakoulas G, Gold H S, Cohen R A, Venkataraman L, Moellering R C, Eliopoulos G M. Effects of prolonged vancomycin administration on methicillin-resistant

Staphylococcus aureus (MRSA) in a patient with recurrent bacteremia. *J Antimicrobial Chemotherapy* 2006; 57(4): 699-704. doi: 10.1093/jac/dkl030.

2. Hefzy E M, Hassan G M, Abd E I, Reheem F. Detection of panton-valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage among Egyptian health care workers. *Surg Infec* 2016; **17**(3): 369-375. doi: 10.1089/sur.2015.192.
3. Petrović-Jeremić L, Kuljić-Kapulica N, Ristanović E, Jošić D, Lepšanović Z. Prevalence of panton-valentine leukocidin genes in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the District of Pomoravlje. *Vojnosanitetski Pregled* 2016; **73**(3): 256-260. doi: 10.2298/VSP140715003P.
4. Firsov A A, Smirnova M V, Strukova E N, Vostrov S N, Portnoy Y A, Zinner SH. Enrichment of resistant *Staphylococcus aureus* at ciprofloxacin concentrations simulated within the mutant selection window: bolus versus continuous infusion. *Inter J antimicrobial agents* 2008; **32**(6): 488-493. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2008.06.031.
5. Eed E M, Ghonaim M M, Hussein Y M, Al-Shehri S S, Khalifa A S. Molecular characterization of Pantone-Valentine leucocidin-producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones isolated from the main hospitals in Taif, KSA. *Indian J Med Microbiol* 2016; **34**(4): 476-482. doi: 10.4103/0255-0857.195364.
6. Kosmidis C, Schindler B D, Jacinto P L, Patel D, Bains K, Seo SM, et al. Expression of multidrug resistance efflux pump genes in clinical and environmental isolates of *Staphylococcus aureus*. *Inter J Antimicrobial Agents* 2012; **40**(3): 204-209. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.04.014.
7. Li X-Z, Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs* 2004; **64**(2):159-204. doi: 10.2165/00003495-200464020-00004.
8. Brown M H, Paulsen L T, Skurray R A. The multidrug efflux protein NorM is a prototype of a new family of transporters *Mol Microbiol* 1999; **31**(1): 394-395. doi: 10.1046/j.1365-2958.1999.01162.x.
9. Poole K. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. *Ann Med* 2007; **39**(3): 162-176. doi: 10.1080/07853890701195262.
10. Li X-Z, Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs* 2009; **69**(12): 1555-1623.
11. Soto S M. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. *Virulence* 2013; **4**(3): 223-229. doi: 10.4161/viru.23724.
12. Netsvetyayeva I, Fraczek M, Piskorska K, Golas M, Sikora M, Mlynarczyk A, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage in Ukraine: antibacterial resistance and virulence factor encoding genes. *BMC Infect Dis* 2014; **5**(14): 128. doi: 10.1186/1471-2334-14-128.
13. De Kievit T R, Parkins M D, Gillis R J, Srikumar R, Ceri H, Poole K, et al. Multidrug efflux pumps: expression patterns and contribution to antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; **45**(6): 1761-1770. doi: 10.1128/AAC.45.6.1761-1770.2001.
14. Deng X, Sun F, Ji Q, Liang H, Missiakas D, Lan L, He C. Expression of multidrug resistance efflux pump gene *norA* is iron responsive in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 2012; **194**(7): 1753-1762. doi: 10.1128/JB.06582-11.
15. Truong-Bolduc Q C, Bolduc G R, Okumura R, Celino B, Bevis J, Liao C H, et al. Implication of the NorB efflux pump in the adaptation of *Staphylococcus aureus* to growth at acid pH and in resistance to moxifloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; **55**(7): 3214-3219. doi: 10.1128/AAC.00289-11.
16. De Araújo R S A, Barbosa-Filho J M, Scotti M T, Scotti L, Cruz RMDd, Falcão-Silva VdS, et al. Modulation of Drug Resistance in *Staphylococcus aureus* with Coumarin Derivatives. *Scientifica (Cairo)* 2016; **2016**: 6894758. doi: 10.1155/2016/6894758
17. Perrott J, Mabasa V H, Ensom M H. Comparing outcomes of meropenem administration strategies based on pharmacokinetic and pharmacodynamic principles: a qualitative systematic review. *Ann Pharmacother* 2010; **44**(3): 557-564. doi: 10.1345/aph.1M339.
18. Igbinosa O E, Beshiru A, Akporehe L U, Oviasogie F E, Lgbinosa O O. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other *Staphylococcus* species in raw meat samples intended for human consumption in Benin City, Nigeria: implications for public health. *Int J Environ Res Public Health* 2016; **13**(10): 949. doi:10.3390/ijerph13100949.
19. Chan B C, Ip M, Lau CB, Lui S L, Jolival C, Ganem-Elbaz C, et al. Synergistic effects of baicalein with ciprofloxacin against *NorA* over-expressed methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and inhibition of MRSA pyruvate kinase. *J Ethnopharmacol* 2011; **137**(1): 767-773. doi: 10.1016/j.jep.2011.06.039.
20. He X, Ahn J. Differential gene expression in planktonic and biofilm cells of multiple antibiotic-resistant *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 2011; **325**(2): 180-188. doi: 10.1111/j.1574-6968.2011.02429.x
21. Liger F, Bouhours P, Ganem-Elbaz C, Jolival C, Pellet-Rostaing S, Popowycz F, et al. C2 Arylated Benzo [b] thiophene Derivatives as *Staphylococcus aureus* NorA Efflux Pump Inhibitors. *Chem Med Chem* 2016; **11**(3): 320-330. doi: 10.1002/cmdc.201500463.
22. Moradi N, Javdpou S, Karmostaji A. Reduced sensitivity of *Staphylococcus aureus* to vancomycin. *J Hormoz Uni Med Sci* 2011; **15**(3): 169-177. [persian].
23. Aslantaş Ö, Demir C. Investigation of the antibiotic resistance and biofilm-forming ability of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis cases. *J Dairy Sci* 2016; **99**(11): 8607-8613. doi: 10.3168/jds.2016-11310.
24. Yang Y, Hu Z, Shang W, Hu Q, Zhu J, Yang J, et al. Molecular and phenotypic characterization revealed high prevalence of multidrug-resistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in chongqing, southwestern china.

- Microb Drug Resist* 2016; **18**: 56-61. doi: 10.1089/mdr.2016.0078.
25. Nakanishi A, Oshida T, Matsushita T, Imajoh-Ohmi S, Ohnuki T. Identification of DNA Gyrase Inhibitor (GyrI) in *Escherichia coli*. *J Bio Chemist* 1998; **273**(4): 1933-1938. doi: 10.1074/jbc.273.4.1933.
26. Saiful A J, Mastura M, Zarizal S, Mazurah MI, Shuhaimi M, Ali A M. Efflux genes and active efflux activity detection in Malaysian clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Basic Microbiol* 2008; **48**(4): 245-251. doi: 10.1002/jobm.200700387.
27. Huet A A, Raygada J L, Mendiratta K, Seo S M, Kaatz G W. Multidrug efflux pump overexpression in *Staphylococcus aureus* after single and multiple in vitro exposures to biocides and dyes. *Microbiol* 2008; **154**(10): 3144-3153. doi: 10.1099/mic.0.2008/021188-0.
28. Costa S S, Junqueira E, Palma C, Viveiros M, Melo-Cristino J, Amaral L, et al. Resistance to antimicrobials mediated by efflux pumps in *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics* 2013; **2**(1): 83-99. doi: 10.3390/antibiotics 2010083.

Original Article

The effect of single bout of continuous and high intensity interval exercise on VEGF levels in adipose tissue in obese male wistar rats

Maryam Nourshahi¹ , Marzieh Bagheri^{1*} , Hasan Fallah Hossaini²

¹ Department of biological sciences in sport, School of Sport Sciences and health, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

² Department of Pharmacology and Functional Medicine, Iranian Institute of Medicinal Plants, Karaj, Iran.

*Corresponding author; E-mail: m.bagheri@ymail.com

Received: 31 January 2017 Accepted: 21 May 2017 First Published online: 17 January 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):74-80

Abstract

Background: Continuous and interval exercises cause losing weight and changing in adipose tissue. The goal of this study is to investigate the effect of single bout of continuous (CON) and high intensity interval exercise (HIIE) on the VEGF levels in adipose tissue of obese male Wistar rats.

Methods: After high fat diet for eight weeks, 30 rats with BMI: 0.68 g/cm² were chosen. The exercise program in HIIE group was 5sets with 100% vVo_{2max} and 4 sets with 30% vVo_{2max}. The intensity in CON group was 65% vVo_{2max}. Both groups started their exercise after 3 minutes of warming up. The control group didn't take part in any exercises. Immediately after exercise animals were anesthetized and then visceral and subcutaneous adipose tissues were removed. Measuring the VEGF levels was performed with western blotting method.

Results: we found that the single bout continuous exercise has increased 39% VEGF levels (P= 0.05), while single bout HIIE has decreased (P=0.012) in visceral adipose tissue. VEGF levels in subcutaneous weren't measurable because of low levels of VEGF or mistake in removing tissue.

Conclusion: Continuous exercise was effective in increasing of VEGF. Decreasing of VEGF levels was due to hypo perfusion in HIIE group during exercise. Because of dysfunction of angiogenic capacity in adipose tissue of obese people to stimulate more adaption and accurate diagnosis, recommended that changes of VEGF levels should measure in different times after exercise.

Keywords: Obesity, Subcutaneous Adipose Tissue, Hypoxia, Inflammation, Vascular Endothelial Growth Factor.

How to cite this article: Nourshahi M, Bagheri M, Hossaini H F. [The effect of single bout of continuous and high intensity interval exercise on VEGF levels in adipose tissue in obese male wistar rats]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February -March;40(6):74-80. Persian.

مقاله پژوهشی

اثر یک جلسه فعالیت تداومی و تناوبی با شدت بالا بر میزان VEGF در بافت چربی موش‌های صحرایی چاق

مریم نورشاهی^۱، مرضیه باقری^{۱*}، حسن فلاح حسینی^۲^۱ گروه علوم زیستی در ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی تهران، تهران، ایران.
^۲ گروه فارماکولوژی و طب کاربردی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج، کرج، ایران.

* نویسنده مسوول؛ ایمیل: m.bagheri@ymail.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۲ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۳۱ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ بهمن و اسفند؛ ۴۰(۶): ۷۴-۸۰

چکیده

زمینه: فعالیت‌های تداومی و تناوبی علاوه بر کاهش وزن می‌توانند موجب تغییراتی در بافت چربی شوند. هدف از انجام این مقاله بررسی اثر یک جلسه فعالیت تداومی و تناوبی با شدت بالا بر میزان VEGF در بافت چربی موش‌های نر و بیستار چاق است.

روش کار: پس از هشت هفته رژیم پرچرب، ۳۰ سر موش با BMI: ۰/۶۸ g/cm² انتخاب شدند. فعالیت در گروه تناوبی با شدت بالا شامل ۵ مرحله با شدت ۱۰۰ vVo2max /٪ و ۴ مرحله با شدت ۳۰ vVo2max /٪ بود. شدت در گروه تداومی نیز برابر با ۶۵ vVo2max /٪ بود. دو گروه فعالیت خود را پس از ۳ دقیقه گرم کردن شروع کردند. گروه کنترل هیچ فعالیتی نداشت. بلافاصله بعد از فعالیت ورزشی حاد موش‌ها بی‌هوش شدند، سپس بافت چربی زیرپوستی و احشایی آنها جمع‌آوری شد. برای تعیین غلظت VEGF از روش وسترن بلات استفاده شد.

یافته‌ها: آزمون آماری ANOVA یک‌طرفه نشان داد، میزان VEGF در گروه تداومی افزایش ۳۹ درصدی داشت (P=۰/۰۵۰)، درحالی‌که پس از فعالیت تناوبی با شدت بالا در بافت چربی احشایی کاهش یافت (P=۰/۰۱۲). میزان VEGF به علت پایین بودن یا خطا در نمونه‌برداری در بافت چربی زیرپوستی قابل اندازه‌گیری نبود.

نتیجه‌گیری: فعالیت تداومی در افزایش VEGF مؤثر بود. احتمال دارد کاهش VEGF در گروه تناوبی به علت کاهش خون‌رسانی به بافت چربی در زمان فعالیت با شدت بالا باشد. با توجه به عملکرد نامناسب ظرفیت آنزیم‌زنجیر در بافت چربی افراد چاق جهت تحریک سازگاری بیشتر و تشخیص دقیق، پیشنهاد می‌شود، تغییرات میزان VEGF در زمان‌های مختلف پس از فعالیت ورزشی اندازه‌گیری شود.

کلیدواژه‌ها: چاقی، چربی زیرپوستی، هایپوکسی، التهاب، فاکتور رشد اندوتلیال عروق

نحوه استناد به این مقاله: نورشاهی م، باقری م، فلاح حسینی ح. اثر یک جلسه فعالیت تداومی و تناوبی با شدت بالا بر میزان VEGF در بافت چربی موش‌های صحرایی چاق. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۷۴-۸۰

حق تألیف برای مؤلف 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

چاقی به عنوان یک بیماری غیر واگیر به طور چشم گیری در بسیاری از کشورها در حال افزایش است. این بیماری دلایل متعددی دارد که از مهم ترین آنها می توان به عوامل وراثتی، کاهش یا عدم فعالیت بدنی و رژیم غذایی نامناسب اشاره نمود (۱). گسترش بافت چربی در نتیجه هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول های این بافت به نام ادیپوسیت ها (Adipocyte) است (۲). در سال ۱۹۷۱، بر طبق گزارش گیرالامو، ارتباط معکوسی بین اندازه ادیپوسیت ها و میزان جریان خون در بافت چربی مشاهده شد (۳). در افراد چاق باوجود افزایش حجم بافت چربی، جریان خون نسبت به افراد لاغر زیاد نمی شود. این امر با کاهش فشار اکسیژن (Hypoxia) در بافت چربی سفید همراه است (۴). تحقیقات متعددی هایپوکسی را آغاز فرآیند التهاب در بافت چربی می دانند که زمینه ساز بروز بیماری های مرتبط با چاقی از جمله مقاومت به انسولین، دیابت نوع دو، فشارخون بالا و برخی از سرطان ها است (۵). در چنین حالتی انتظار می رود در زمان هایپوکسی در بافت چربی برای جبران کاهش اکسیژن، بیان ژن های مربوط به رگ زایی (آنژیوژنز) افزایش یابد تا جریان خون و غلظت اکسیژن در بافت زیاد شود و موجب بهبود در التهاب ایجاد شده در بافت چربی شود (۶). بر این اساس گروه های مختلفی تحقیقات خود را برای یافتن فاکتورهای مؤثر در افزایش فاکتورهای رگ زایی و مطالعه اثرات آن در بافت چربی متمرکز کرده اند. تحقیقات سان و همکاران نشان داده است که در بافت چربی، VEGF (فاکتور رشد اندوتلیال عروق) مهم ترین فاکتور رگ زایی، توسط عوامل مختلفی نظیر هایپوکسی، غلظت سائتوکاین های مؤثر در رگ زایی، سطح فعالیت بدنی و غیره تنظیم می شود (۶). از طرفی پاساریکا و همکاران بیان داشتند که هایپوکسی ایجاد شده در بافت چربی به اندازه ای نیست که بتواند موجب فعال شدن VEGF و رگ زایی کافی در بافت چربی شود (۷). با توجه به این نتیجه، گروه های مختلفی در پی یافتن عوامل افزایش دهنده VEGF در بافت چربی هستند که در این میان، نقش فعالیت ورزشی به عنوان محرک تولید VEGF بسیار قابل توجه است. به عنوان نمونه وال و همکاران نقش ورزش را در تحریک VEGF بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که افزایش VEGF در اثر یک جلسه فعالیت تناوبی روی دوچرخه ارگومتر، به طور معنی داری بر میزان سطح VEGF سرمی تأثیر مثبت دارد (۸). فعالیت ورزشی علاوه بر افزایش متابولیسم و کاهش چاقی (۹) با تحریک رگ زایی در بافت چربی موجب بهبود بیماری های ناشی از آن می شود (۴). با توجه به اینکه تنوع فعالیت های ورزشی از نظر شدت، مدت، اندام های درگیر و غیره متفاوت است، به نظر می رسد برنامه های تمرینی مختلف اثرات متفاوتی بر کاهش وزن بدن (۹) و تغییرات بافتی نظیر میزان VEGF داشته باشند (۱۰). در تایید این موضوع رواسی و همکاران (۱۳۹۳) در تحقیقی تأثیر دو

نوع فعالیت بدنی توأم تداومی و تناوبی را بر میزان VEGF-A سرمی مردان غیر ورزشکار بررسی کردند. نتایج این تحقیق افزایش سطح VEGF-A را دو ساعت پس از فعالیت ورزشی نشان داد (۱۰). به منظور کاهش بیماری های مرتبط با چاقی، تحقیقات انجام شده در پی یافتن بهترین برنامه ورزشی جهت تنظیم روند رگ زایی در بافت چربی هستند. ولی به علت پیچیده بودن نقش ورزش در تغییر الگوی متابولیسمی بافت های مختلف به خصوص بافت چربی، نتیجه ای مقایسه ای و قطعی در این زمینه منتشر نشده است. از طرفی برای شناخت اثر میزان فعالیت ورزشی بر تغییرات بافتی، اولین گام فهمیدن اثر ورزش بر تغییرات VEGF در بازه های کوتاه مدت است. همچنین به علت تفاوت اثر فعالیت بدنی بر بافت های مختلف و اهمیت بافت چربی در بروز التهاب و مقاومت به انسولین، مقاله حاضر با هدف بررسی دو نوع فعالیت تداومی و تناوبی بر میزان فاکتور VEGF بافت چربی احشایی و زیرپوستی موش های چاق صحرایی انجام شد.

روش کار

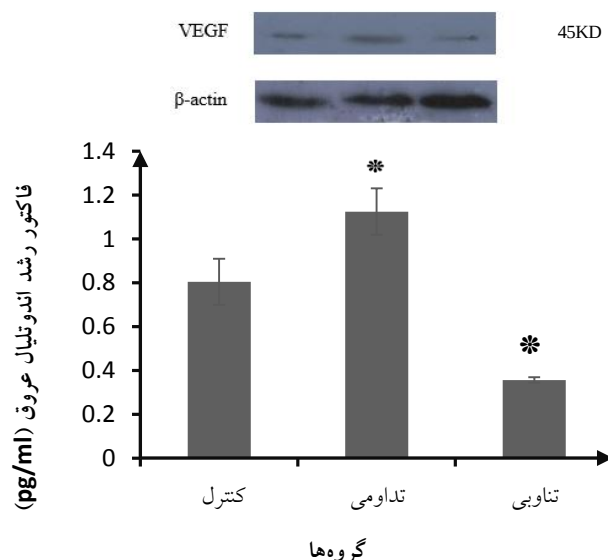
در این پژوهش ۴۵ سر موش نر ویستار ۸ هفته ای از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه شد. موش ها هشت هفته با رژیم غذایی پرچرب تغذیه شدند. قد، وزن بدن موش ها و وزن غذا به صورت هفتگی اندازه گیری شد. در نهایت، نمونه آماری شامل ۳۰ سر موش ۱۶ هفته ای با شاخص توده بدنی بیشتر از 0.68 g/cm^2 (۱۱) انتخاب شدند. به منظور انجام فعالیت وامانده - ساز، موش ها از پایان هفته ششم به مدت دو هفته با تردمیل آشنا شدند. رژیم غذایی: برای تهیه غذا پلیت های عادی حیوان پودر با روغن و آب مخلوط شد. ۲۰٪ روغن گیاهی) و ۸۰٪ پلیت عادی بود. انرژی حیوانی و ۲۰٪ روغن گیاهی) و ۸۰٪ پلیت عادی بود. انرژی حاصل از چربی معادل ۳۵٪ کل انرژی روزانه بود. سپس خمیر حاصل، درون آون با دمای ۱۲۰ درجه به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه قرار داده شد، پس از آن به تکه های کوچک مناسب جهت استفاده حیوان تقسیم شد. کل مراحل تهیه غذا در انیستیتو تغذیه و مواد غذایی شهید بهشتی انجام شد. پس از ۸ هفته و انتخاب موش ها با توجه به شاخص توده بدنی در سه گروه کنترل، تداومی و تناوبی با شدت بالا ($n=10$ در هر گروه) تقسیم شدند. میانگین وزنی در هر سه گروه یکسان ($320 \pm 10 \text{ gr}$) بود. آزمون جهت تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی: آزمون شامل ۱۰ مرحله سه دقیقه ای بر روی تردمیل با شیب صفر بود. سرعت در مرحله اول ۰/۳ متر بر دقیقه بود و در مراحل بعدی ۰/۳ متر به سرعت تردمیل اضافه شد. پس از آزمون وامانده ساز موش ها به مدت ۲۴ ساعت فعالیتی انجام ندادند. سپس گروه های تجربی فعالیت تداومی و تناوبی با شدت بالا را به شرح زیر انجام دادند. فعالیت تناوبی با شدت بالا: مراحل انجام فعالیت ۴ مرحله بود. در مرحله ی گرم کردن موش ها

روش وسترن بلات شناسایی شد. به منظور اندازه‌گیری میزان پروتئین، چگالی باندهای پروتئینی در فیلم عکاسی با نرم‌افزار Image J محاسبه شد. همچنین به منظور حذف خطای احتمالی لود مقادیر مساوی پروتئین‌ها، دانسیته‌های به دست آمده از باندهای مربوط به VEGF بر دانسیته باند بتا‌کتین به دلیل ثابت بودن میزان بیان آن در سلول تقسیم شدند. برای محاسبات آماری از نرم‌افزار spss16 استفاده شد. برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شپروویلک و از آزمون one way ANOVA در سطح $P \leq 0.05$ برای نشان دادن اختلاف معنی‌داری مقادیر VEGF بین گروه‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار تغییرات وزن حیوانات در طول هشت هفته رژیم پرچرب در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج این تحقیق نشان داد میان سطوح VEGF در بافت چربی احشایی در بین سه گروه تحقیق تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0.01$) و $(F_{2,6}=27.245)$. برای بررسی معنی‌داری بین گروه‌ها به علت متجانس بودن واریانس‌ها ($P=0.063$) از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. با توجه به نتایج این آزمون مشخص شد که بین گروه کنترل و تمرین تداومی ($P=0.050$)، گروه کنترل و تمرین تناوبی با شدت بالا ($P=0.012$) و همچنین بین دو گروه تمرین تداومی و تناوبی با شدت بالا ($P=0.01$) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. این تغییرات در نمودار ۱ نمایش داده شده است. لازم به ذکر است که میزان VEGF در بافت چربی زیرپوستی به علت پایین بودن میزان پروتئین یا خطا در نمونه‌برداری بافت قابل اندازه‌گیری نبود.

با سرعت $13-16 \text{ m/min}$ معادل $40-50\%$ حداکثر اکسیژن مصرفی بر روی تردمیل دویدند. در مرحله‌ی آماده‌سازی برای ورود به ست‌های تناوبی با شدت بالا، به مدت سه دقیقه با سرعت $17-21 \text{ m/min}$ معادل 85% حداکثر اکسیژن مصرفی دویدند. سپس در ست‌های ۲ دقیقه‌ای ایستروال شامل پنج ست با سرعت $20-25 \text{ m/min}$ معادل 100% حداکثر اکسیژن مصرفی و چهار ست با سرعت $6-7 \text{ m/min}$ معادل 30% حداکثر اکسیژن مصرفی به فعالیت پرداختند و در نهایت موش‌ها پنج دقیقه با سرعت $40-50\%$ حداکثر اکسیژن مصرفی سرد کردند. فعالیت تداومی: شدت فعالیت در گروه تمرین تداومی برابر با سرعتی معادل 65% حداکثر اکسیژن مصرفی بود. مدت زمان دویدن برابر با مسافت طی شده در ست‌های ایستروال در گروه تناوبی بود. همچنین مراحل گرم کردن و سرد کردن ۵ دقیقه فعالیت با سرعت $40-50\%$ حداکثر اکسیژن مصرفی بود. لازم به ذکر است گروه کنترل در این مدت در هیچ فعالیتی شرکت نداشت. بلافاصله پس از فعالیت تناوبی و تداومی گروه‌ها، با توجه به وزن موش‌ها، حیوانات با ترکیبی از کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند. سپس بافت چربی زیرپوستی از سمت راست شکم و قسمت پایین ناف نزدیک به کشاله ران و بافت چربی احشایی مزانتیری، خلف صفاق و چربی اطراف کلیه به منظور بافت چربی احشایی برداشته شد و در فریزر در دمای -80°C درجه نگه‌داری شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها با lysis buffer لیز شدند و در دستگاه هموژنایزر قرار گرفتند و در آخر در سانتریفیوژ مدل Eppendorph 5415R در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و با سرعت 10000 دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع شفاف (Supernatant) در بالای محلول حاوی پروتئین استخراج و در فریزر -20°C درجه نگه‌داری شد. مقادیر پروتئین VEGF، با استفاده از آنتی‌بادی VEGF ساخت شرکت abcam آمریکا و با



نمودار ۱. مقایسه میانگین و انحراف معیار میزان پروتئین VEGF در چربی احشایی گروه‌های کنترل، تداومی و تناوبی
* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار تغییرات وزن موش‌ها در طول هشت هفته رژیم غذایی پرچرب

هفته هشتم	هفته نهم	هفته دهم	هفته یازدهم	هفته دوازدهم	هفته سیزدهم	هفته چهاردهم	هفته پانزدهم	هفته شانزدهم
۲۰۹/۸۲	۲۱۰/۰۵	۲۲۹/۰۵	۲۴۷/۰۰	۲۶۲/۶۱	۲۶۷/۲۰	۲۹۱/۰۵	۳۰۵/۵۹	۳۲۰/۲۶
۸/۴۰	۸/۱۷	۷/۲۸	۱۰/۳۲	۱۲/۸۲	۱۰/۹۷	۱۳/۲۸	۱۰/۰۰	۱۴/۹۸

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد میزان VEGF در بافت چربی احشایی بلافاصله پس از یک جلسه فعالیت هوازی تداومی به صورت معنی داری ۳۹٪ افزایش یافت. تحقیقات مختلفی باهدف تأثیر فعالیت ورزشی با شدت‌های گوناگون بر میزان VEGF پس از فعالیت انجام شده است. Wahl و همکاران بیان کردند، یک جلسه فعالیت تداومی با شدت ۵۰٪ PPO بر روی دوچرخه ارگومتر تأثیر قابل توجهی بر میزان VEGF پس از فعالیت ورزشی ندارد (۸). همچنین Nourshahi و همکاران کاهش میزان VEGF را بلافاصله پس از فعالیت ۴۵ دقیقه‌ای با شیب ۱۶- بر روی تردمیل در موش‌های صحرایی گزارش کردند (۱۲). در مقابل Disanzo و همکاران افزایش میزان VEGF را پس از ۸ هفته تمرین تداومی در موش‌های چاق در بافت چربی احشایی گزارش کردند (۱۳). به طور کلی می‌توان گفت شدت‌های گوناگون فعالیت ورزشی و زمان آن بر تغییرات VEGF اثرگذار است.

از طرفی افزایش VEGF ناشی از اجرای فعالیت ورزشی، از دو جنبه دیگر قابل بحث است. در شرایط هایپوکسی و ایسکمی ناشی از اجرای فعالیت ورزشی، فاکتور القایی (HIF) افزایش می‌یابد. HIF با اثرگذاری روی بخشی از ژن VEGF موجب افزایش بیان این فاکتور می‌شود (۱۴). در زمان فعالیت نیز، جریان خون به سمت عضلات فعال افزایش می‌یابد. در تایید این موضوع در ارتباط با بافت چربی، هوهیمر و همکاران نشان دادند که جریان خون بافت چربی در نتیجه فعالیت ورزشی کاهش می‌یابد (۱۵). در نتیجه در زمان فعالیت ورزشی، جریان خون در بافت چربی احشایی کاهش می‌یابد. این مسئله با کاهش فشار اکسیژن در این بافت همراه است. در این زمان با افزایش فعالیت HIF1- α موجب افزایش VEGF در بافت چربی احشایی می‌شود.

از دیگر دلایل افزایش VEGF، افزایش IL-6 و اسیدهای چرب آزاد در بافت چربی است (۱۶). چربی احشایی به نسبت چربی زیرپوستی بیشتر با التهاب در ارتباط است زیرا مقادیر IL-6، MCP-1 و IL-8 بیشتر از مخازن چربی احشایی ترشح می‌شوند (۱۷). Christiansen و همکاران بیان داشتند فعالیت حاد موجب افزایش فاکتورهای التهابی IL-6 و TNF- α در افراد دارای اضافه وزن و چاق در بافت چربی به نسبت افراد لاغر می‌شود (۱۸). Ravasi و همکاران نیز بیان کردند که زمان طولانی‌تر فعالیت هوازی پیش‌رونده در آزمودنی‌های سالم موجب ترشح بیشتر ایتروکین‌های مختلف از جمله IL-6 و در پی آن افزایش بیشتر VEGF-A سرمی شده است (۱۰). با در نظر گرفتن این مطالب

به عنوان نتیجه‌گیری می‌توان بیان کرد با توجه به نوع آزمودنی‌ها و پروتکل این تحقیق (موش‌های چاق و فعالیت حاد تداومی) افزایش VEGF مشاهده شده در بافت چربی به علت افزایش فاکتورهای التهابی پس از فعالیت حاد تداومی در بافت چربی احشایی است. نتیجه دیگر این تحقیق کاهش ۶۰ درصدی VEGF پس از فعالیت ورزشی تناوبی در بافت چربی احشایی است. Gu و همکاران عنوان کردند که کاهش VEGF سرم به دنبال فعالیت حاد، ممکن است ناشی از اتصال VEGF به گیرنده‌های موجود روی سلول‌های اندوتلیال به منظور فرایند آنژیوژنز در عضله اسکلتی باشد (۱۹). از طرفی احتمال دارد کاهش VEGF به علت اتصال آن به دیگر پروتئین‌ها باشد. در همین راستا نشان داده شده است که آدیپونکتین مقدار VEGF سرم را در افراد با وزن طبیعی کاهش می‌دهد (۲۰). Zilaei و همکاران نشان دادند که تمرین تناوبی در مقایسه با تمرین تداومی موجب افزایش آدیپونکتین در زنان چاق می‌شود (۲۱). همچنین Zeng و همکاران بیان کردند تمرین با شدت بالا در مقایسه با تمرین کم شدت‌تر سبب افزایش ۱۵۰ درصدی آدیپونکتین می‌شود (۲۲). از طرفی Kriketos و همکاران عنوان کردند که فعالیت حاد تک جلسه‌ای، مقدار آدیپونکتین را افزایش می‌دهد (۲۳). با توجه به دلایل ذکر شده احتمال دارد چنین روندی در بافت چربی احشایی نیز رخ داده باشد که به موجب آن، شاهد کاهش VEGF پس از فعالیت تناوبی در پژوهش حاضر هستیم.

میزان VEGF در بافت چربی زیرپوستی در مقاله حاضر قابل اندازه‌گیری نبود، که ممکن است ناشی از خطای نمونه‌برداری یا غلظت بسیار پایین این پروتئین در بافت چربی زیرپوستی در گروه‌های کنترل، تداومی و تناوبی با شدت بالای این پژوهش باشد. برای توضیح این امر می‌توان به پژوهش دیسانزو و همکاران اشاره کرد که بیان کردند، تمرین ورزشی باعث تغییر در VEGF-A بافت چربی احشایی می‌شود و در مقابل این تغییر را در بافت چربی زیرپوستی مشاهده نکردند (۱۳). Czarkowska و همکاران نیز بیان داشتند تمرین موجب افزایش بیان ژنی VEGF-A در بافت چربی زیرپوستی می‌شود، اما تغییری در مورد سطوح پروتئینی مشاهده نشد که با غلظت پایین این پروتئین در بافت چربی زیرپوستی در این تحقیق همسو است (۲۴). از طرفی امکان دارد فاکتور دیگری در فرایند رگ‌زایی در بافت چربی نقش داشته باشد، همانطور که Gealekman و همکاران در تحقیق خود بیان کردند، فاکتور ANGPTL4 نقش مهمی در فعالیت پروآنژیوتیک در بافت

دکتر نورشاهی و جناب آقای دکتر حسن فلاح حسینی و کارکنان دانشکده تربیت بدنی دانشگاه شهید بهشتی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج و مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منافع متقابل

مولفان اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تالیف این مقاله ندارد.

مشارکت مولفان

م-ن، م-ب و همکاران مقاله حاضر را طراحی، اجرا و تحلیل نتایج را بر عهده داشته‌اند.

ملاحظات اخلاقی

تمام آزمایش‌های صورت گرفته بر اساس دستورالعمل کمیته کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید بهشتی طراحی گردید. همچنین در طول انجام پژوهش کدهای راهنمای کار با حیوانات ابلاغی وزارت بهداشت مورد توجه و رعایت گردید.

چربی زیرپوستی و احشایی دارد و این فاکتور عامل اساسی در ظرفیت آنژیوژنیک در بافت چربی زیرپوستی است (۲۵).

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر، اولین پژوهشی است که تغییرات میزان VEGF را در بافت چربی زیرپوستی و احشایی در موش‌های صحرایی چاق مورد بررسی قرار داده است. نتایج این پژوهش نشان داد نوع و شدت‌های مختلف فعالیت ورزشی بر میزان VEGF در بافت چربی اثرگذار است. به‌طوری‌که فعالیت تداومی موجب افزایش و فعالیت تناوبی موجب کاهش VEGF در بافت چربی احشایی شد. پیشنهاد می‌شود برای نتیجه‌گیری بهتر زمان‌های مختلف بعد از تمرین تناوبی به‌منظور بیش جبرانی متغیرها پس از این کاهش مورد اندازه‌گیری قرار گیرد. همچنین در تحقیقات بعدی، علاوه بر اندازه‌گیری میزان VEGF بافت چربی، میزان VEGF در خون و فضای میان بافتی پس از دوره‌های تمرینی با شدت و زمان‌های متفاوت اندازه‌گیری شود تا مقایسه‌ای درست با توجه به محل اندازه‌گیری به‌دست آید.

قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه با شماره ۲۶۷ (پایگاه قدیم دانشگاه شهید بهشتی) برگرفته شده است. همچنین از اساتید محترم سرکار خانم

References

- Krüger K, Mooren F C, Eder K, Ringseis R. Immune and Inflammatory Signaling Pathways in Exercise and Obesity. *American Journal of Lifestyle Medicine* 2016; **10**(4): 268-279. doi: 10.1177/1559827614552986
- Martinez-Santibañez G, Nien-Kai Lumeng C. Macrophages and the regulation of adipose tissue remodeling. *Annual review of nutrition* 2014; **34**: 57-76. doi: 10.1146/annurev-nutr-071812-161113
- Di Girolamo M A, Skinner N S, Hanley H G, Sachs R G. Relationship of adipose tissue blood flow to fat cell size and number. *American Journal of Physiology--Legacy Content* 1971; **220**(4): 932-937.
- Makki K, Froguel P, Wolowczuk I. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN inflammation* 2013; **22**: 2013. doi: 10.1155/2013/139239
- Trayhurn P. Hypoxia and adipocyte physiology: implications for adipose tissue dysfunction in obesity. *Annual review of nutrition* 2014; **34**: 207-236. doi: 10.1146/annurev-nutr-071812-161156.
- Sun K, Asterholm I W, Kusminski C M, Bueno A C, Wang Z V, Pollard J W, Brekken R A, Scherer P E. Dichotomous effects of VEGF-A on adipose tissue dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2012; **109**(15): 5874-5879. doi: 10.1073/pnas.1200447109.
- Pasarica M, Sereda O R, Redman L M, Albarado D C, Hymel D T, Roan L E, et al. Reduced adipose tissue oxygenation in human obesity. *Diabetes* 2009; **58**(3):718-725. doi: 10.2337/db08-1098
- Wahl P, Zinner C, Achtzehn S, Behringer M, Bloch W, Mester J. Effects of acid-base balance and high or low intensity exercise on VEGF and bFGF. *European journal of applied physiology* 2011; **111**(7): 1405-1413. doi: 10.1007/s00421-010-1767-1
- Tsai M S, Kuo M L, Chang C C, Wu Y T. The effects of exercise training on levels of vascular endothelial growth factor in tumor-bearing mice. *Cancer Biomarkers* 2013; **13**(5): 307-313. doi: 10.3233/CBM-130359
- Ravasi A, Yadegari M, Choobineh S. The effect of two types of physical activity on response serum VEGF-A, non-athletic men. *Sport Bioscience (Harkat)* 2014; **6**: 41-56. (Persian).
- Novelli E L, Diniz Y S, Galhardi C M, Ebaid G M, Rodrigues H G, Mani F, et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory animals* 2007; **41**(1): 111-119. doi: 10.1258/00236770779399518

12. Nourshahi M, Feizemilani R, Gholamali M. The effects of acute eccentric exercise on serum vascular endothelial growth factor and endostatin concentration in male wistar rats. *Journal of Sport in Biomotor Sciences* 2012; **5**: 86-94. (Persian).
13. Disanzo B L, You T. Effects of exercise training on indicators of adipose tissue angiogenesis and hypoxia in obese rats. *Metabolism* 2014; **63**(4): 452-455. doi: 10.1016/j.metabol.2013.12.004
14. Hirota K, Semenza G L. Regulation of angiogenesis by hypoxia-inducible factor 1. *Critical reviews in oncology/hematology* 2006; **59**(1): 15-26. doi: 10.1016/j.critrevonc.2005.12.003
15. Hohimer A R, Hales J R, Rowell L B, Smith O A. Regional distribution of blood flow during mild dynamic leg exercise in the baboon. *Journal of Applied Physiology* 1983; **55**(4): 1173-1177.
16. Kawamura T, Murakami K, Bujo H, Unoki H, Jiang M, Nakayama T, et al. Matrix met alloproteinase-3 enhances the free fatty acids-induced VEGF expression in adipocytes through toll-like receptor 2. *Experimental Biology and Medicine* 2008; **233**(10): 1213-1221. doi: 10.3181/0801-RM-20
17. Bruun J M, Helge J W, Richelsen B, Stallknecht B. Diet and exercise reduce low-grade inflammation and macrophage infiltration in adipose tissue but not in skeletal muscle in severely obese subjects. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2006; **290**(5): E961-967. doi: 10.1152/ajpendo.00506.2005
18. Christiansen T, Bruun J M, Paulsen S K, Ølholm J, Overgaard K, Pedersen S B, et al. Acute exercise increases circulating inflammatory markers in overweight and obese compared with lean subjects. *European journal of applied physiology* 2013; **113**(6): 1635-1642. doi: 10.1007/s00421-013-2592-0
19. Gu J W, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH. Exercise increases end statin in circulation of healthy volunteers. *BMC physiology* 2004; **4**(1): 2. doi: 10.1186/1472-6793-4-2
20. Lang K, Ratke J. Leptin and Adiponectin: new players in the field of tumor cell and leukocyte migration. *Cell Communication and Signaling* 2009; **7**(1): 27. doi: 10.1186/1478-811X-7-27
21. Zilaei bouri S, Peeri M. The Effect of Exercise Intensity on the Response of Some of Adipocytokins and Biochemical Marker of Bone in Obese and Overweight Young Female. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2015; **16**(6): 425-432. (Persian).
22. Zeng Q, Isobe K, Fu L, Ohkoshi N, Ohmori H, Takekoshi K, et al. Effects of exercise on adiponectin and adiponectin receptor levels in rats. *Life Sciences* 2007; **80**(5): 454-459. doi: 10.1016/j.lfs.2006.09.031
23. Kriketos A D, Gan S K, Poynten A M, Furler S M, Chisholm D J, Campbell L V. Exercise increases adiponectin levels and insulin sensitivity in humans. *Diabetes Care* 2004; **27**(2): 629-630. doi: 10.2337/diacare.27.2.629
24. Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Bartłomiejczyk I, Przybylski J, Gorski J. The influence of physical exercise on the generation of TGF- β 1, PDGF-AA, and VEGF-A in adipose tissue. *European journal of applied physiology* 2011; **111**(5): 875-881. doi: 10.1007/s00421-010-1693-2
25. Gealekman O, Guseva N, Hartigan C, Apotheker S, Gorgoglione M, Gurav K, et al. Depot-specific differences and insufficient subcutaneous adipose tissue angiogenesis in human obesity. *Circulation* 2011; **1**: Circulationaha-110. doi: 10.1161/ Circulationaha.110.970145

Original Article

Association between *Helicobacter pylori* infection and perforated peptic ulcer in patients operated in Urmia Imam Khomeini teaching hospital

Mehryar Nahaei¹ , Shiva Pakzad*¹ , Rahim Mahmodlou¹ , Kamran Shateri² 

¹Department of General Surgery, Imam Khomeini Medical Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.

²Department of Gastroenterology, Imam Khomeini Medical Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.

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

Received: 21 January 2017 Accepted: 12 February 2017 First Published online: 17 January 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):81-87

Abstract

Background: Perforation is one of the most serious and potentially fatal complications of peptic ulcer disease. Based on patient's clinical condition, the traditional treatment of peptic ulcers often involves a definitive wound procedure or simple closure of the perforation cavity. The purpose of this study was to investigate the association between serological and pathologic findings in *Helicobacter pylori* infection with perforated peptic ulcer in surgical patients at Urmia Imam Khomeini Medical Center.

Methods: In a cross-sectional study, 80 patients with perforated peptic ulcer and 80 control subjects who underwent endoscopy due to uncomplicated peptic ulcer were entered this study at Imam Khomeini Medical Center of Urmia in 2017-2018. During the operation, a biopsy specimen was taken from the stomach wall and sent to the laboratory for pathologic and blood sent for serologic (IgM and IgG) examinations. Patients in the control group with uncomplicated peptic ulcers underwent a gastric biopsy during the endoscopy process; they were also examined for the same anti-*H. pylori* immunoglobulins. Data were analyzed statistically using SPSS-21 software.

Results: Of the 80 patients in the study group, 51 (63.8%) were male and 29 (36.2%) were female. In the control group, 42 (52.5%) were male and 38 (47.5%) were female. The mean age in the case and control groups were 51.83 ± 17.94 and 47.75 ± 12.89 years, respectively ($p = 0.149$). Fifty one (63.8%) of the case patients compared to 38 (47.5%) of control patients were IgM positive for *H. pylori* ($p = 0.02$). Regarding IgG, 41 (51.3%) of case patients were positive, while 55 (68.8%) of control patients were recorded as positive ($p = 0.01$). Our pathology results were positive for *H. pylori* in 66 (82.5%) of case patients compared to 48 (60%) of control patients, respectively ($p = 0.001$). Of 80 case patients, ulcers were detected to be prepyloric in 59 (73.8%) patients, body of stomach in 12 (16%) and duodenum ulcers in 5 (6.25%) patients.

Conclusion: Statistically significant differences observed between case and control groups ($p < 0.05$) and our results suggest that closure of the perforated wound and eradication of *H. pylori* can be the first step in the treatment of perforated peptic ulcer disease and could prevent the recurrence of the disease. Further studies using large numbers of patients and their follow up is recommended.

Keywords: Perforated peptic ulcer, *Helicobacter pylori*, Simple patch closure, Biopsy.

How to cite this article: Nahaei M, Pakzad Sh, Mahmodlou R, Shateri K. [Association between *Helicobacter pylori* infection and perforated peptic ulcer in patients operated in Urmia Imam Khomeini teaching hospital]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March;40(6):81-87. Persian.

مقاله پژوهشی

ارتباط بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری و زخم پپتیک پرفوره در بیماران جراحی شده در بیمارستان امام خمینی (ره) ارومیه

مهریار نهائی^۱، شیوا پاکزاد^{۱*}، رحیم محمودلو^۱، کامران شاطری^۲

^۱گروه جراحی عمومی، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.
^۲گروه بیماریهای داخلی - گوارش، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.
 * نویسنده مسئول: ایمیل: shiva.pakzad@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۷/۵/۶ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۲۵ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. بهمن و اسفند ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۸۱-۸۷

چکیده

زمینه: پرفوراسیون یکی از عوارض جدی و بالقوه کشنده بیماری زخم پپتیک می باشد. براساس شرایط بالینی بیمار، درمان سستی زخمهای پپتیک غالباً شامل یک پروسیجر قطعی زخم یا بستن ساده حفره محل پرفوراسیون می باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری به صورت سرولوژیک و پاتولوژیک با زخم پپتیک پرفوره در بیماران جراحی شده در مرکز امام خمینی (ره) ارومیه بود.

روش کار: در این مطالعه مقطعی، تعداد ۸۰ بیمار مبتلا به زخم پپتیک پرفوره که در مرکز پزشکی امام خمینی (ره) ارومیه در سال های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ تحت جراحی قرار گرفتند و ۸۰ فرد کنترل که به دلیل زخم پپتیک غیر عارضه دار تحت آندوسکوپی قرار گرفتند وارد مطالعه شدند. بیماران گروه مورد تحت لاپاراتومی قرار گرفته و زخم پپتیک پرفوره به وسیله بستن ساده همراه با پیچ امتوم ترمیم شد. در حین عمل یک نمونه بیوپسی از جدار معده اخذ شد و جهت بررسی از نظر پاتولوژی و نیز نمونه خون برای اندازه گیری ایمونوگلوبولین های IgM و IgG ضد هلیکوباکتر پیلوری به آزمایشگاه ارسال گردید. در بیماران گروه شاهد نیز نمونه های مشابهی جهت بررسی پاتولوژیک و سرولوژیک ارسال گردید. اطلاعات کسب شده وارد چک لیست محقق ساخته شدند و سپس داده ها وارد نرم افزار SPSS-21 شدند و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته ها: از ۸۰ بیمار گروه مورد ۵۱ نفر (۶۳/۸٪) مذکر و ۲۹ نفر (۳۶/۲٪) مونث بودند. در گروه کنترل ۴۲ نفر (۵۲/۵٪) مذکر و ۳۸ نفر (۴۷/۵٪) مونث بودند. میانگین سن در گروه مورد $51/83 \pm 17/94$ سال و در گروه کنترل $47/75 \pm 12/89$ سال بود ($P=0/149$). پنجاه و یک نفر (۶۳/۸٪) از بیماران گروه مورد و ۳۸ نفر (۴۷/۵٪) از بیماران گروه کنترل IgM مثبت بودند ($P=0/02$). پنجاه و پنج نفر (۶۸/۸٪) از بیماران گروه مورد و ۴۱ نفر (۵۱/۳٪) از گروه کنترل IgG مثبت بودند ($P=0/01$). نتایج پاتولوژی در ۶۶ نفر (۸۲/۵٪) از بیماران گروه مورد مثبت بود، درحالیکه ۴۸ نفر (۶۰٪) از گروه کنترل نتایج پاتولوژی مثبت داشتند ($P=0/001$). از ۸۰ بیمار گروه مطالعه محل زخم پپتیک در ۵۹ نفر (۷۳/۸٪) پره پیلوریک، در ۱۶ نفر (۲۰٪) بادی معده و در ۵ نفر (۶/۲۵٪) دئودنوم بود.

نتیجه گیری: نتایج یافته های پاتولوژیک و سرولوژیک در گروه های مورد و کنترل حاکی از تفاوت معنی دار آماری ($P>0/05$) بود و نشان داد که بستن زخم پرفوره و ریشه کن نمودن هلیکوباکتر پیلوری می تواند در بیماران قدم اول درمانی برای بیماری زخم پپتیک پرفوره باشد و مانع از عود مجدد بیماری گردد. با توجه به تعداد نمونه های بررسی شده در این مطالعه توصیه می شود مطالعات دیگری با تعداد نمونه های بیشتر و نیز با پی گیری بیماران بعد از درمان و بستن زخم پرفوره انجام گردد.

کلید واژه ها: زخم پپتیک پرفوره، هلیکوباکتر پیلوری، ترمیم زخم، بیوپسی

نحوه استناد به این مقاله: نهائی م، پاکزاد ش، محمودلو ر، شاطری ک. ارتباط بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری و زخم پپتیک پرفوره در بیماران جراحی شده در بیمارستان امام خمینی (ره) ارومیه. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۸۱-۸۷

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتو 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

پرفوراسیون یکی از عوارض جدی و بالقوه کشنده‌ی بیماری زخم پپتیک می‌باشد (۱). پرفوراسیون در ۲ تا ۱۰٪ از بیماران با مشکل زخم پپتیک اتفاق می‌افتد و مسئول بیش از ۷۰٪ مرگ و میرها بیماری زخم پپتیک می‌باشد. اغلب پرفوراسیون اولین تظاهر بالینی بیماری زخم پپتیک محسوب می‌گردد (۲). بروز پرفوراسیون دژودنال ۷ تا ۱۰ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ فرد بالغ در هر سال می‌باشد (۳-۷). محل پرفوراسیون معمولاً شامل دیواره‌ی قدامی دژودنوم (۶۰٪) می‌باشد، هر چند ممکن است در قسمت آنترال (۲۰٪) و زخم‌های گاستریک انحنای کوچک (۲۰٪) (Lesser-curvature) اتفاق بیفتد (۸). زخم دژودنوم ضایعه‌ی غالب در جمعیت‌های غربی می‌باشد، در حالی که زخم‌های گاستریک بیشتر در کشورهای شرقی، به خصوص در ژاپن رویت می‌شود. زخم‌های گاستریک مورتالیته و موربیدیتیه‌ی بالاتری ناشی از خونریزی، پرفوراسیون و انسداد دارند (۹). پرفوراسیون زخم پپتیک معمولاً یک اختلال در بیماران جوانتر (به طور غالب در مردان) می‌باشد، اما اخیراً سن بیماران با زخم پپتیک پرفوره (غالباً در زنان) در حال افزایش می‌باشد (۱۰-۴). نیاز به جراحی برای زخم پپتیک پرفوره ثابت باقی مانده با حتی افزایش پیدا کرده است و مورتالیتیه‌ی جراحی زخم پپتیک از زمان معرفی آنتاگونیستهای گیرنده‌ی H_2 کاهش نیافته است و زخم‌های پپتیک هنوز مسئول حدود ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ مرگ در سال در اروپا محسوب می‌شود (۱۱-۸). این امر ممکن است به خاطر افزایش استفاده از آسپیرین یا ضدالتهاب‌های غیراستروئیدی باشد (۱۲). بر اساس شرایط بالینی بیمار، درمان سستی زخم‌های پپتیک غالباً شامل یک پروسیجر قطعی زخم یا بستن ساده حفره‌ی محل پرفوراسیون می‌باشد. پروسیجرهای کاهش اسید به صورت فوری، علاوه بر ترمیم زخم، عود را کاهش داده است. با این حال، این اقدامات در شرایط اورژانسی و به ویژه در شرایط شدید بیماری، می‌تواند مشکل ساز باشد و با عوارض طولانی مدت همراه می‌باشد (۱۳). پیشرفت‌ها در تحقیقات صورت گرفته بر روی پاتوفیزیولوژی بیماری زخم پپتیک، منجر به تغییراتی در درمان جراحی بیماری زخم پپتیک پرفوره شده است. با معرفی مهارکننده‌های پمپ پروتون، یک پروسیجر بستن ساده‌ی زخم برای بیماری زخم پپتیک، مقبولیت گسترده‌ای را کسب کرده است و می‌تواند به صورت لاپاراسکوپی نیز صورت بگیرد (۱۴ و ۱۵). با این حال، این عمل با میزان عود بالای زخم و عوارضی همچون پرفوراسیون مجدد، خونریزی یا تنگی همراه می‌باشد (۱۶). نتایج تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که هلیکوباکتر پیلوری یک نقش مهم در پاتوژنز بیماری زخم پپتیک بازی می‌کند. این باکتری به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب به وسیله‌ی تغییرات در مخاط معده‌ی که بوسیله‌ی التهاب و زخم ایجاد شده است، تحریک می‌شود (۱۷). درمان مناسب آنتی-

بیوتیکی در ترکیب با مهارکننده‌های پمپ پروتون یا بلوکه کننده‌های هیستامین (H_2) عفونت هلیکوباکتر پیلوری را در ۹۰٪ موارد ریشه کن می‌کند (۱۸). مطالعات اخیر به طور گسترده ارتباط بین هلیکوباکتر پیلوری و زخم پپتیک پرفوره را ارزیابی نموده و به نتایج متناقضی دست یافته‌اند و شیوع عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیمار مبتلا به زخم پپتیک پرفوره از ۴۷٪ به وسیله‌ی روشهای سرولوژیک (۱۹) تا ۸۰٪ در مطالعات بیوپسی (۲۰) متفاوت بوده است. همچنین با توجه به جستجویی که در این زمینه در سطح منطقه و استان انجام شد موردی از مطالعه‌ی ارتباط بین این دو عامل یافت نشد که اهمیت موضوع در سطح کشور را بیان می‌کند. بنابراین هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی ارتباط بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری به صورت سرولوژیک و پاتولوژیک با زخم پپتیک پرفوره در بیماران جراحی شده در مرکز پزشکی امام خمینی (ره) ارومیه بود.

روش کار

در این مطالعه‌ی مقطعی، تعداد ۸۰ بیمار مبتلا به زخم پپتیک پرفوره که در مرکز پزشکی امام خمینی (ره) ارومیه در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ تحت جراحی قرار گرفتند و ۸۰ فرد کنترل که به دلیل زخم پپتیک غیر عارضه دار تحت آندوسکوپی قرار گرفتند و از نظر سن و جنس با گروه مورد هماهنگی داشتند وارد مطالعه شدند. از تمامی بیماران رضایت‌نامه آگاهانه شرکت در مطالعه اخذ شد و در صورتیکه بیمار رضایت به ورود به مطالعه نداشت یا طی ۶ ماه اخیر، درمان ریشه‌کنی هلیکوباکتر پیلوری و داروهایی از قبیل کورتیکواستروئید یا ضد التهاب‌های غیر استروئیدی دریافت کرده بود، از مطالعه خارج شد. اطلاعات مربوط به سن و جنس و بیماریهای زمینه‌ای از بیماران اخذ شد. تمامی بیماران گروه مورد بوسیله‌ی یک جراح با تجربه تحت لاپاراتومی قرار گرفته و زخم پپتیک پرفوره به وسیله‌ی بستن ساده همراه با پیچ امتوم ترمیم شد. در حین عمل یک نمونه‌ی بیوپسی از جدار معده اخذ شد و به آزمایشگاه ارسال شد و با انجام رنگ آمیزی وارتین استاری از نظر هلیکوباکتر پیلوری بررسی شد. همچنین، یک نمونه‌ی خون جهت بررسی از نظر ایمونوگلوبولین‌های ضد هلیکوباکتر پیلوری از بیماران اخذ شد و میزان IgG و IgM اندازه‌گیری شد که مقادیر $IgM \geq 1.1$ و $IgG \geq 10$ مثبت در نظر گرفته شد. بیماران گروه شاهد نیز که به دلیل زخم پپتیک غیر عارضه دار تحت آندوسکوپی قرار گرفتند، در حین انجام پروسه‌ی آندوسکوپی، یک نمونه‌ی بیوپسی از جدار معده‌ی بیماران اخذ شد. سپس یک نمونه‌ی خون از بیماران گروه شاهد برای بررسی از نظر ایمونوگلوبولین‌های ضد هلیکوباکتر پیلوری اخذ شد. تمامی اطلاعات کسب شده وارد

چک لیست محقق ساخته شده گردید و سپس داده‌ها وارد نرم افزار SPSS-21 شده و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها

در این مطالعه مقطعی، تعداد ۸۰ بیمار مبتلا به زخم پپتیک پرفوره که در مرکز پزشکی امام خمینی (ره) ارومیه در سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ تحت جراحی قرار گرفتند و ۸۰ فرد کنترل که به دلیل زخم پپتیک غیر عارضه‌دار تحت آندوسکوپی قرار گرفتند، وارد مطالعه شدند. از ۸۰ بیمار گروه مطالعه ۵۱ نفر (۶۳/۸٪) مذکر و ۲۹ نفر (۳۶/۲٪) مونث بودند. از ۸۰ بیمار گروه کنترل ۴۲ نفر (۵۲/۵٪) مذکر و ۳۸ نفر (۴۷/۵٪) مونث بودند. مطابق با آزمون آماری Chi-square تفاوت معنی‌داری بین جنس بیماران دو گروه تحت مطالعه وجود نداشت ($P=0/149$). میانگین سن در گروه مورد $51/83 \pm 17/94$ سال و در گروه کنترل $47/75 \pm 12/89$ سال بود. مطابق با آزمون T-test تفاوت معنی‌داری بین میانگین سن دو گروه مورد مطالعه وجود نداشت ($P=0/1$). پنجاه و یک نفر (۶۳/۸٪) از بیماران گروه مورد و ۳۸ نفر (۴۷/۵٪) از بیماران

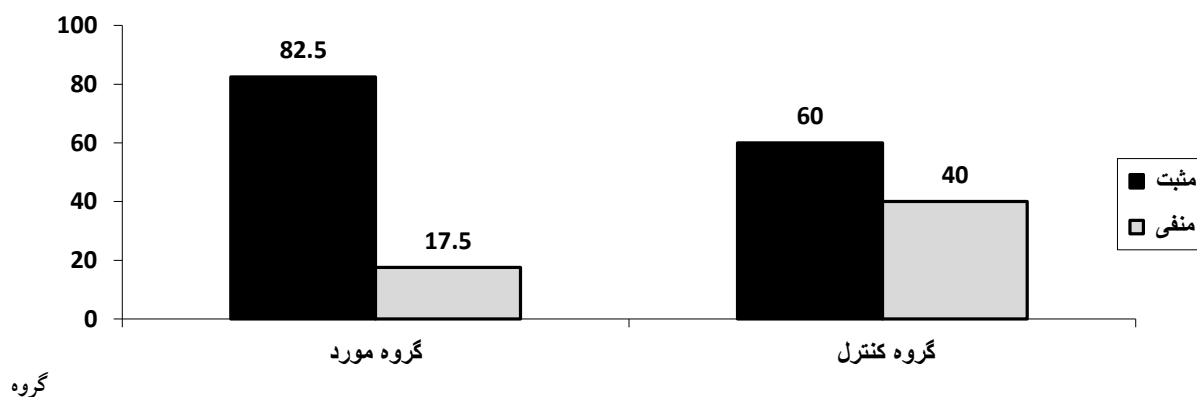
گروه کنترل IgM مثبت بودند. با آزمون آماری Fisher Exact test تفاوت معنی‌دار بین دو گروه مطالعه و کنترل وجود داشت ($P=0/02$) (جدول ۱). پنجاه و پنج نفر (۶۸/۸٪) از بیماران گروه مورد و ۴۱ نفر (۵۱/۳٪) از گروه کنترل IgG مثبت بودند. آزمون آماری Fisher Exact test تفاوت معنی‌داری بین هلیکوباکتر پیلوری مثبت IgG بین دو گروه مطالعه و کنترل را نشان داد ($P=0/01$) (جدول ۲). نتایج پاتولوژی هلیکوباکتر پیلوری در ۶۶ نفر (۸۲/۵٪) از بیماران گروه مورد مثبت بود و در گروه کنترل ۴۸ نفر (۶۰٪) نتایج پاتولوژی هلیکوباکتر پیلوری مثبت داشتند. آزمون آماری Fisher Exact test تفاوت معنی‌داری را بین پاتولوژی هلیکوباکتر پیلوری مثبت دو گروه مطالعه و کنترل نشان داد ($P=0/001$) (نمودار ۱). از ۸۰ بیمار گروه مورد محل زخم پپتیک در ۵۹ نفر (۷۳/۸٪) پره پیلوریک، در ۱۶ نفر (۲۰٪) بادی معده و در ۵ نفر (۶/۲۵٪) دئودنوم بود. بیماری زمینه‌ای و نکروز در هیچ کدام از بیماران گروه مورد و گروه کنترل وجود نداشت.

جدول ۱: توزیع فراوانی مطلق و نسبی IgM ضد هلیکوباکتر پیلوری در دو گروه تحت مطالعه

گروه مطالعه	هلیکوباکتر پیلوری IgM		جمع کل
	مثبت	منفی	
گروه مورد	۵۱ (۶۳/۸٪)	۲۹ (۳۶/۲٪)	۸۰ (۱۰۰٪)
گروه کنترل	۳۸ (۴۷/۵٪)	۴۲ (۵۲/۵٪)	۸۰ (۱۰۰٪)
جمع کل	۸۹ (۵۵/۶٪)	۷۱ (۴۴/۴٪)	۱۶۰ (۱۰۰٪)

جدول ۲: توزیع فراوانی مطلق و نسبی IgG ضد هلیکوباکتر پیلوری در دو گروه تحت مطالعه

گروه مطالعه	هلیکوباکتر پیلوری IgG		جمع کل
	مثبت	منفی	
گروه مورد	۵۵ (۶۸/۸٪)	۲۵ (۳۱/۲٪)	۸۰ (۱۰۰٪)
گروه کنترل	۴۱ (۵۱/۳٪)	۳۹ (۴۸/۷٪)	۸۰ (۱۰۰٪)
جمع کل	۹۶ (۶۰٪)	۶۴ (۴۰٪)	۱۶۰ (۱۰۰٪)



نمودار ۱: توزیع فراوانی نسبی عفونت هلیکوباکتر پیلوری به روش پاتولوژی در دو گروه تحت مطالعه



نمودار ۲: توزیع فراوانی نسبی محل زخم پپتیک در گروه مورد

بحث

این مطالعه مقطعی با هدف بررسی ارتباط بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری و زخم پپتیک پرفوره در بیماران جراحی شده در سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در بیمارستان امام خمینی (ره) ارومیه انجام شد. همسان بودن بیماران در هر دو گروه تحت مطالعه مانع از اثر مخدوشگر جنس و سن بیماران در نتایج این مطالعه گردید. پرفوراسیون زخم پپتیک معمولاً یک اختلال در بیماران جوانتر (به طور غالب در مردان) می باشد، اما اخیراً سن بیماران با زخم پپتیک پرفوره (غالباً در زنان) در حال افزایش می باشد (۱۰-۴). نیاز به جراحی برای زخم پپتیک پرفوره ثابت باقی مانده یا حتی افزایش پیدا کرده است و مورتالیتی جراحی زخم پپتیک از زمان معرفی آنتاگونیستهای گیرنده H_2 کاهش نیافته است و زخم های پپتیک هنوز مسئول حدود ۲۰۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰ مرگ در سال در اروپا هستند (۸-۱۱).

هلیکوباکتر پیلوری می تواند در محیط نامساعد معده زندگی نماید و آنزیم ها و سموم زیادی تولید می کند که یکی از این مواد پروتئازی است که موکوس معده را تغییر داده و توانایی اسید را برای انتشار بیشتر در موکوس کاهش می دهد، همچنین یک آنزیم اوره از قوی ترشح می کند که با تجزیه اوره باعث تولید آمونیاک شده و موجب بافری کردن بیشتر اسید معده می گردد (۶ و ۷).

عفونت ناشی از هلیکوباکتر پیلوری در ۹۵ درصد از بیماران مبتلا به زخم دوازدهه و در ۸۰ درصد از بیماران مبتلا به زخم معده دیده شده است و افراد مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری حداقل چهار برابر سایر افراد در معرض زخم های گوارشی هستند. نتایج مطالعه ما نشان داد بیشترین درصد محل زخم پپتیک در پره پیلوریک (۷۳/۸٪)، سپس در بادی معده (۲۰٪) و با کمترین درصد (۳/۱٪) در دئودنوم بود. بیشترین درصد مبتلایان به زخم پپتیک پرفوره در مطالعه ما مردان بودند و بیماران مبتلا در محدوده سنی ۵۱ سال قرار داشتند. در این مطالعه بیماران گروه مورد بوسیله ی یک جراح با تجربه تحت لاپاراسکپی قرار گرفته و زخم پپتیک پرفوره به وسیله ی بستن ساده همراه با پیچ امتنوم ترمیم شد. در حین عمل یک نمونه ی بیوپسی از جدار معده اخذ شد و به

آزمایشگاه ارسال شد و با انجام رنگ آمیزی از نظر هلیکوباکتر پیلوری بررسی شد. نتایج بدست آمده از نظر پاتولوژی هلیکوباکتر پیلوری تفاوت معنی داری بین بیماران مبتلا به زخم پپتیک پرفوره و بیماران بدون عارضه زخم پپتیک را نشان داد به طوری که در گروه کنترل ۱۷/۵٪ تست هلیکوباکتر پیلوری منفی بود، ولی ۴۰٪ از بیماران گروه مورد از نظر تست هلیکوباکتر پیلوری منفی بودند. همچنین، یک نمونه ی خون جهت بررسی از نظر ایمونوگلوبولین های ضد هلیکوباکتر پیلوری از بیماران اخذ شد و میزان IgM ، IgG اندازه گیری شد که مقادیر $IgM \geq 1.1$ و $IgG \geq 10$ مثبت در نظر گرفته شد. از بیماران گروه شاهد نیز که به دلیل زخم پپتیک غیر عارضه دار تحت آندوسکوپی قرار گرفتند یک نمونه ی خون برای بررسی از نظر ایمونوگلوبولین های ضد هلیکوباکتر پیلوری اخذ شد. ۶۳/۸٪ از بیماران مبتلا به زخم پپتیک پرفوره و ۴۷/۵٪ از بیماران گروه کنترل دارای تست IgM مثبت بودند ($P=0/02$). یافته های مطالعه ی ما از نظر IgG ضد هلیکوباکتر پیلوری نشان داد که ۶۸/۸٪ از بیماران مبتلا به زخم پپتیک پرفوره و ۵۱/۳٪ از بیماران گروه کنترل دارای تست IgG مثبت بودند ($P=0/01$), لذا هر دو ایمونوگلوبولین تست شده در دو گروه مورد و کنترل دارای تفاوت معنی دار آماری هستند. در مطالعه ای که توسط Enders و همکاران با هدف ریشه کن کردن هلیکوباکتر پیلوری و کاهش خطر عود زخم پس از بستن ساده زخم دئودال پرفوره انجام شد، در آندوسکوپی اولیه تفاوت معنی داری از نظر بهبودی زخم بین دو گروه از بیمارانی که تحت درمان ضد هلیکوباکتر پیلوری با بیمارانی که امپرازول دریافت نمودند وجود نداشت. پس از یکسال، میزان عود زخم به طور معنی داری در بیماران درمان شده با درمان ضد هلیکوباکتر پیلوری به طوری معنی داری کمتر از بیمارانی که تحت درمان امپرازول قرار گرفتند بود (۲۱). Enders و همکاران نتیجه گیری نمودند که ریشه کن کردن هلیکوباکتر پیلوری از عود زخم در بیماران با زخم های دئودال پرفوره مرتبط با هلیکوباکتر پیلوری پیشگیری می کند. این یافته ها با نتایج مطالعه ما که بستن زخم پرفوره منجر به کاهش گرفتاری با هلیکوباکتر

که بستن زخم پرفوره در بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری می-تواند درمان مناسبی برای این بیماران باشد همسو می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه بیانگر ارتباط قوی بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری و زخم پپتیک پرفوره بود و با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت بستن زخم پرفوره و ریشه کردن نمودن هلیکوباکتر پیلوری می‌تواند قدم اول درمانی برای بیماران مبتلا به زخم پپتیک پرفوره باشد و مانع از عود مجدد بیماری می‌گردد. البته با توجه به این که تعداد نمونه‌های ما در این بررسی کم بود، توصیه می‌شود این مطالعه با تعداد نمونه‌های بیشتر و نیز پیگیری بیماران بعد از درمان و بستن زخم پرفوره انجام گردد تا بتوان بهترین شیوه درمانی به عنوان درمان انتخابی زخم پپتیک پرفوره را به کار گرفت.

قدردانی

از کلیه‌ی بیماران محترم که در این مطالعه شرکت نمودند و از پرسنل پرتلاش آزمایشگاه‌های بیمارستان امام خمینی (ره) ارومیه که در انجام آزمایش‌های سرولوژیک و پاتولوژی همکاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله مستخرج از پایاننامه-ی تخصصی مهریار نهائی بشماره پایاننامه‌ی ۲۸۸۷-۶۳-۰۹-۹۶ می‌باشد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته‌ی اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، استان آذربایجان غربی به شماره‌ی مرجع IR.umsu. rec.1396.113 به تایید رسیده است.

منابع مالی

منابع مالی ندارد.

منافع متقابل

نویسندگان این مقاله اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله وجود ندارد.

مشارکت مولفان

م ن، ش پ و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را به عهده داشته، مقاله را تالیف نموده و نسخه‌ی نهایی آن را خوانده و تایید کرده اند.

پیلوری در بیماران با زخم پپتیک پرفوره گردید، تطابق دارد. Wong و همکاران بدنال مطالعه‌ی متاآنالیزی که شامل پنج کارآزمایی تصادفی کنترل شده و ۴۰۱ بیمار بود، شیوع بالا از عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیماران با زخم پپتیک پرفوره را گزارش نمودند. میزان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری به طور معنی-داری در گروه درمان نسبت به گروهی که درمان برای آنها صورت نگرفته بود، بالاتر بود. در نهایت این گونه نتیجه‌گیری نمودند که درمان ریشه کنی می‌بایست در بیماران با عفونت هلیکوباکتر پیلوری پس از بستن ساده‌ی زخم‌های معده‌ای-دوازده‌ای پرفوره، تأمین گردد (۱) که با نتایج مطالعه ما مبنی بر شیوع بالای عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیماران با زخم پپتیک پرفوره همسو می‌باشد و همچنین با نتایج مطالعه ما که بعد از بستن زخم و ارسال نمونه به آزمایشگاه شاهد کاهش عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به زخم پپتیک پرفوره بودیم. بنابراین نتایج مطالعه ما نیز نشان می‌دهد بستن زخم و سپس درمان جهت ریشه‌کنی هلیکوباکتر پیلوری در زخم‌های معده، دئودنوم و غیره می‌تواند عود زخم در بیماران را کاهش دهد. Tokunaga و همکاران در مطالعه خود نشان دادند زخم پرفوره به طور معنی‌داری با عفونت هلیکوباکتر پیلوری و تغییرات گاستریتی شدیدتر نسبت به زخم‌های همورائیک و پرفوره، همراه بود (۲۲). این پژوهشگران در نهایت اینگونه نتیجه‌گیری کردند که بیماران با زخم پرفوره در زمان جراحی، در مقایسه با زخم‌های استنوتیک و همورائیک به صورت شدیدتری مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری بودند. یک ارتباط نزدیک بین زخم پرفوره و دانسیته‌ی عفونت هلیکوباکتر پیلوری که به صورت نیمه کمی با استفاده از رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی تعیین شده بود، مشاهده شد. این نتایج با یافته‌های مطالعه ما در مقایسه با بروز عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیماران با زخم پرفوره که در مقایسه با گروه کنترل بیشترین درصد را داشت همسو می‌باشد و نشان می‌دهد بستن اولیه زخم و ریشه کن نمودن عفونت هلیکوباکتر پیلوری می‌تواند مانع از عود زخم گردد (۲۳ و ۲۴). Tomitchong و همکاران در مطالعه مروری که درصدد تعیین میزان کارایی ریشه‌کن ساختن هلیکوباکتر پیلوری پس از بستن ساده‌ی زخم پپتیک پرفوره در بهبودی این بیماری انجام دادند، نتیجه‌گیری کردند که ریشه‌کن ساختن هلیکوباکتر پیلوری پس از بستن ساده‌ی زخم دئودنال پرفوره، نتیجه‌ی بهتری از جراحی به همراه درمان ضدترشحاتی بدون ریشه-کن ساختن هلیکوباکتر پیلوری در پیشگیری از عود زخم، به همراه دارد. تمامی بیماران زخم پپتیک پرفوره، می‌بایست از نظر عفونت هلیکوباکتر پیلوری بررسی شوند و درمان ریشه‌کن سازی در تمامی بیماران مبتلا، ضروری می‌باشد (۲۵). این یافته‌ها با نتایج مطالعه ما

References

- Wong C S, Chia C F, Lee H, Wei P L, Ma H P, Tsai S H, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* for prevention of ulcer recurrence after simple closure of perforated peptic ulcer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Surgical Research* 2013; **182**(2): 219-226. doi: 10.1016/j.jss.2012.10.046.
- Druart M, Van Hee R, Etienne J, Cadiere G, Gigot J, Legrand M, et al. Laparoscopic repair of perforated duodenal ulcer. *Surgical Endoscopy* 1997; **11**(10): 1017-1020. doi: 10.1007/s004649900515.
- Harbison S P, Dempsey D T. Peptic ulcer disease. *Current Problems in Surgery* 2005; **42**(6): 346-454. doi: 10.1067/j.cpsurg.2005.02.005.
- Lunevicius R, Morkevicius M. Management strategies early results benefits and risk factors of laparoscopic repair of perforated peptic ulcer. *World Journal of Surgery* 2005; **29**(10): 1299-1310. doi: 10.1007/s00268-005-7705-4.
- Nusree R. Conservative management of perforated peptic ulcer. *Thai J Surg* 2005; **26**: 5-8.
- Ramakrishnan K, Salinas R C. Peptic ulcer disease. *Am Fam Physician* 2007; **76**(7): 1005-1012.
- Sarosi G A, Jaiswal K R, Nwariaku F E, Asolati M, Fleming J B, Anthony T. Surgical therapy of peptic ulcers in the 21st century: more common than you think. *The American Journal of Surgery* 2005; **190**(5): 775-779. doi: 10.1007/s004230050250.
- Zittel T, Jehle E, Becker H. Surgical management of peptic ulcer disease today-indication technique and outcome. *Langenbecks Archives of Surgery* 2000; **385**(2): 84-96. doi: 10.1007/s004230050250.
- Sivri B. Trends in peptic ulcer pharmacotherapy. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 2004; **18**(1): 23-31. doi: 10.1111/j.1472-8206.2004.00203.x.
- Imhof M, Epstein S, Ohmann C, Röher H D. Duration of survival after peptic ulcer perforation. *World Journal of Surgery* 2008; **32**(3): 408-412. doi: 10.1007/s00268-007-9370-2.
- Bucher P A R, Oulhaci W, Morel P, Ris F, Huber O. Results of conservative treatment for perforated gastroduodenal ulcers in patients not eligible for surgical repair. *Swiss Medical Weekly* 2007; **137**(23-24): 337-340.
- Lagoo S, McMahon R L, Kakihara M, Pappas T N, Eubanks S. The sixth decision regarding perforated duodenal ulcer. *Journal-Society of Laparoendoscopic Surgeons* 2002; **6**(4): 359-368.
- Tsugawa K, Koyanagi N, Hashizume M, Tomikawa M, Akahoshi K, Ayukawa K, et al. The therapeutic strategies in performing emergency surgery for gastroduodenal ulcer perforation in 130 patients over 70 years of age. *Hepato-Gastroenterology* 2000; **48**(37): 156-162.
- Siu W T, Leong H T, Law B K, Chau C H, Li A C, Fung K H, et al. Laparoscopic repair for perforated peptic ulcer: a randomized controlled trial. *Annals of Surgery* 2002; **235**(3): 313-319. doi: 10.1097/00000658-200203000-00001.
- Lo H C, Wu S C, Huang H C, Yeh C C, Huang J C, Hsieh C H. Laparoscopic simple closure alone is adequate for low risk patients with perforated peptic ulcer. *World Journal of Surgery* 2011; **35**(8): 1873-1888. doi: 10.1007/s00268-011-1106-7.
- Bornman P, Theodorou N, Jeffery P, Marks I, Essel H, Wright J, et al. Simple closure of perforated duodenal ulcer: a prospective evaluation of a conservative management policy. *British Journal of Surgery* 1990; **77**(1): 73-75. doi: 10.1002/bjs.1800770126.
- Mihmanli M, Isgor A, Kabukcuoglu F, Turkay B, Cikla B, Baykan A. The effect of H. pylori in perforation of duodenal ulcer. *Hepato-Gastroenterology* 1997; **45**(23): 1610-1612.
- Graham D Y. Treatment of peptic ulcers caused by *Helicobacter pylori*. *The New England Journal of Medicine* 1993; **328**: 349-350. doi: 10.1056/nejm199302043280512.
- Reinbach D, Cruickshank G, McColl K. Acute perforated duodenal ulcer is not associated with *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1993; **34**(10): 1344-1347. doi: 10.1136/gut.34.10.1344.
- Matsukura N, Onda M, Tokunaga A, Kato S, Yoshiyuki T, Hasegawa H, et al. Role of *Helicobacter pylori* infection in perforation of peptic ulcer: an age- and gender-matched case-control study. *Journal of Clinical Gastroenterology* 1997; **25**: S235-S239. doi: 10.1097/00004836-199700001-00037.
- Ng E K, Lam Y, Sung J J, Yung M, To K, Chan A C, et al. Eradication of : Randomized Controlled Trial *Helicobacter pylori*: Randomized Controlled Trial Prevents Recurrence of Ulcer After Simple Closure of Duodenal Ulcer Perforation: Randomized Controlled Trial. *Annals of Surgery* 2000; **231**(2): 153-158. doi: 10.1097/0000658-200002000-00001.
- Tokunaga Y, Hata K, Ryo J, Kitaoka A, Tokuka A, Ohsumi K. Density of *Helicobacter pylori* infection in patients with peptic ulcer perforation. *Journal of the American College of Surgeons* 1998; **186**(6): 659-663. doi: 10.1016/s1072-7515(98)00128-8.
- Huang J Q, Sridhar S, Hunt R H. Role of *Helicobacter pylori* infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis. *The Lancet* 2002; **359**(9300): 14-22. doi: 10.1016/s0140-6736(02)07273-2.
- Ootani H, Iwakiri R, Shimoda R, Nakahara S, Amemori S, Fujise T, et al. Role of *Helicobacter pylori* infection and nonsteroidal anti-inflammatory drug use in bleeding peptic ulcers in Japan. *Journal of Gastroenterology* 2006; **41**(1): 41-46. doi: 10.1007/s00535-005-1720-y.
- Tomtitchong P, Siribumrungwong B, Vilaichone R, Kasetsuwan P, Matsukura N, Chaiyakunapruk N. Systematic review and meta-analysis: *Helicobacter pylori* eradication therapy after simple closure of perforated duodenal ulcer. *Helicobacter* 2012; **17**(2): 148-152. doi: 10.1111/j.1523-5378.2011.00928.x.

Original Article

Effect of 8 weeks endurance training with *Chlorella Vulgaris* supplementation on liver enzymes levels in women with type 2 diabetes

Javad Vakili^{*} , Ramin Amir Sasan , Fatemeh Ordibazar 

Department of Exercise Physiology, School of Physical Education, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

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

Received: 31 December 2016 Accepted: 9 March 2017 First Published online: 17 January 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):88-97

Abstract

Background: Considering the increased rate of obesity and diabete and their relationship with liver disease this research was performed to determine the effect of eight weeks endurance training with chlorella supplementation on serum levels of liver enzymes in type 2 diabetic middle aged women.

Methods: In this semi experimental research, 40 non-athletic type 2 diabetic women (45-65 years old) with BMI greater than 25 were voluntarily divided into four groups: control, chlorella supplementation, endurance training and endurance training with chlorella. Training group performed walking and running three sessions a week for eight weeks, with an intensity of 65%-85% of maximum heart rate for 25 to 40 minutes. Chlorella group consumed chlorella capsule at a dose of 600 mg two times a day. 24 hours before and 48 hours after training, 5cc blood samples were taken from the brachial vein in the fasting state to measure liver enzymes including: Alanine transaminase (ALT), Aspartate transaminase (AST), and Alkaline phosphatase. One-Way ANOVA test was used to evaluate the effectiveness of the exercise protocol. All statistical test were performed considering $p < 0.05$ meaningful.

Results: Ther was a significant difference among control and cholorella group after 8 weeks training on the enzymes AST and ALP: (respectively $p = 0,004$, $p = 0,006$) .Also variations of enzyme ALT in chlorella and endurance training+chlorella groups had a meaningful difference with control group (respectively $p = 0,022$, $p = 0,027$).

Conclusion: The chlorella supplementation decreases liver enzyme levels in type 2 diabetic patients and can be helpful in treating of fatty liver type 2 diabetic subjects.

Keyword: Aerobic Exercise, Diabetic, Dietary Supplement, Elevated Liver Enzymes.

How to cite this article: Vakili J, Amir Sasan R, Ordibazar F. [Effect of 8 weeks endurance training with *Chlorella Vulgaris* supplementation on liver enzymes levels in women with type 2 diabetes]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March;40(6):88-97. Persian.

مقاله پژوهشی

اثر هشت هفته تمرین استقامتی همراه با مکمل‌دهی کلرلا بر مقادیر آنزیم‌های کبدی در زنان میانسال دیابتی نوع دو

جواد وکیلی^{۱*}، رامین امیرساسان^۱، فاطمه اردی بازار^۱گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
* نویسنده مسوول؛ ایمیل: vakili.tu@gmail.comدریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۴ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۱۱ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز، بهمن و اسفند ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۸۸-۹۷

چکیده

زمینه: با توجه به شیوع چاقی و دیابت و ارتباط آنها با بیماری کبدی پژوهش حاضر با هدف تعیین تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی همراه با مکمل‌دهی کلرلا بر مقادیر سرمی آنزیم‌های کبدی در زنان میانسال دیابتی نوع دو انجام شد.

روش کار: در این پژوهش نیمه تجربی ۴۰ زن غیرفعال دیابتی نوع دو در دامنه سنی ۴۵-۶۵ سال با شاخص توده بدنی بیشتر از ۲۵ بصورت داوطلبانه انتخاب شده و در یکی از چهار گروه ۱۰ نفره کنترل، مصرف کلرلا، تمرین استقامتی و مصرف کلرلا و تمرین استقامتی قرار گرفتند. تمرینات استقامتی سه جلسه در هفته به مدت هشت هفته با شدت ۶۵ تا ۸۵ درصد ضربان قلب بیشینه و مدت ۲۵ تا ۴۰ دقیقه اجرا شد. مکمل کلرلا نیز روزانه به میزان ۶۰۰ میلی‌گرم در دو وعده غذایی بصورت قرص مصرف شد. در ابتدا و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی نمونه‌گیری خون در حالت ناشتا به میزان ۵ سی‌سی از ورید بازویی به منظور اندازه‌گیری مقادیر آنزیم‌های کبدی شامل آلانین ترانس آمیناز (ALT)، آسپارات ترانس آمیناز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) انجام شد. از آزمون تحلیل واریانس یک راهه (AVONA) به منظور بررسی و تعیین اثربخشی پروتکل تمرینی استفاده شد. کلیه آزمون‌های آماری در سطح معناداری $P < 0.05$ انجام شد.

یافته‌ها: نتایج تحقیق نشان داد که تفاوت معناداری در آنزیم‌های AST ($P=0.007$)، ALT ($P=0.011$) و ALP ($P=0.009$) در ۴ گروه مشاهده شد. و این تفاوت در آنزیم‌های AST و ALP بین گروه کنترل و گروه مصرف کلرلا (به ترتیب $P=0.004$ و $P=0.006$) و در آنزیم ALT در گروه‌های مصرف مکمل و تمرین استقامتی + مصرف مکمل با گروه کنترل معنی دار بود (به ترتیب $P=0.002$ و $P=0.027$).

نتیجه‌گیری: استفاده از مکمل کلرلا می‌تواند در کاهش شاخص‌های آسیب کبدی مؤثر بوده و احتمالاً در درمان بیماران دیابتی مبتلا به کبد چرب تأثیرگذار باشد.

کلید واژه‌ها: فعالیت ورزشی هوازی، دیابت، مکمل غذایی، افزایش آنزیم‌های کبدی

نحوه استناد به این مقاله: وکیلی ج، امیرساسان ر، اردی بازار اثر هشت هفته تمرین استقامتی همراه با مکمل‌دهی کلرلا بر مقادیر آنزیم‌های کبدی در زنان میانسال دیابتی نوع دو. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۸۸-۹۷

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتو کامنز (i) 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

یکی از پیامدهای پیشرفت تکنولوژی کاهش فعالیت بدنی است. افراد کم تحرک مستعد ابتلا به بیماریهای قلبی - عروقی و اختلالات قند خون هستند. براساس مطالعات صورت گرفته افزایش چربی در بدن که معمولاً با چاقی شکمی در افراد کم تحرک همراه است می تواند زمینه ساز بیماری هایی همچون کبد چرب شود. این بیماری با برخی بیماری های متابولیک ارتباط نزدیک دارد که یکی از مهم ترین آن ها دیابت می باشد (۱). نتایج تحقیقات نشانه داده است که مقاومت به انسولین که زمینه ساز بروز دیابت نوع ۲ محسوب می شود سبب تجمع چربی در سلولهای کبدی می شود. دیابت به طور یقین یک تهدید جدی برای سلامتی بشر در قرن ۲۱ به شمار می رود و به خاطر شیوع سریع آن در دو دهه اخیر توجه زیادی را به خود معطوف کرده است (۲).

بهترین ارزیابی بالینی کبد از طریق بررسی تغییرات فعالیت آنزیم های کبدی به ویژه آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) می باشد. ALT و AST آنزیم هایی هستند که به ترتیب انتقال گروه آمینی از آسپاراتات و آلانین به آلفاکتوگلو تارات را کاتالیز می کنند. بیماری های کبدی مهمترین عامل افزایش فعالیت ترانس آمیناز در سرم هستند. در بیشتر بیماری ها، ALT بیشتر از AST است. افزایش فعالیت ALT برای مدت طولانی تری نسبت به افزایش فعالیت AST پایدار می ماند. لذا از نسبت AST/ALT در تشخیص افتراقی بیماری های کبدی استفاده می شود (۳). رویکردهای متعدد هم چون رژیم غذایی، ورزش، عمل جراحی و دارو درمانی جهت درمان دیابت و عوارض دراز مدت آن نظیر بیماری های کبدی استفاده می شوند؛ در این میان، به دلیل پرهزینه بودن داروهای شیمیایی و عوارض دراز مدت آن، رویکردهای تغذیه ای و فعالیت ورزشی از گزینه های درمانی مطلوب مطرح می شوند (۴). فعالیت فیزیکی منظم، مهمترین عامل در کنترل و پیشگیری از ابتلا به دیابت نوع ۲ می باشد که با کاهش وزن و افزایش مصرف روزانه انرژی موجب کاهش مقاومت انسولین و افزایش تحمل گلوکز می شود. همچنین غذاهای فراویژه به دلیل دارا بودن اثرات سودمند بر التهاب، مقاومت به انسولین، چاقی و استرس اکسایشی توجه زیادی را به خود جلب کرده اند (۵). میکروجلبک ها منابع با ارزشی از عوامل پری بیوتیک می باشند. کلرلا نوعی جلبک سبز تک سلولی است که منبع خوبی از پروتئین، ویتامین های محلول در چربی، کولین، فیبر و مواد معدنی است. کلرلا ولگاریس (*Chlorella vulgaris*) که ارزش تغذیه ای آن بین سال های ۱۹۵۰ تا ۱۹۶۰ شناسایی شده به عنوان منبع ارتقاء دهنده سلامتی در انواع اختلالات متعددی همچون اختلالات چربی خون، آترواسکلروز، کاهش قند خون و فشار خون می باشد (۶). کلرلا ولگاریس منبع

غنی آنتی اکسیدان هایی هم چون لوتئین، آلفا و بتا کاروتن، اسید آسکوربیک و توکوفرول است که توانایی جاروب کردن رادیکال های آزاد را دارند (۷). با این حال، این مکمل در مطالعات ورزشی کمتر بررسی شده است. احتمالاً تمرین هوازی همراه با مصرف مکمل کلرلا با کاهش آمینوترانسفرازهای سرم، تأثیر بهتری بر پیشگیری، کنترل و درمان دیابت و بیماری های کبدی خواهد داشت. متخصصان عقیده دارند که رژیم غذایی به تنهایی در درمان چاقی و متابولیسم چربی های خون کافی نیستند، بلکه فعالیت های بدنی نیز باید به برنامه روزانه اضافه شود. در این میان تمرینات هوازی به عنوان جزء ضروری در درمان چاقی و افزایش آنزیم های اکسیداسیون، به کاهش بافت چربی و کاهش عوامل التهابی منجر می شود (۸).

اثر تمرینات بدنی بر آنزیم های کبدی در همه مطالعات یکسان نبوده است. در تحقیقی گزارش شده است که ۸ هفته تمرین هوازی منظم سطح آنزیم های AST و ALT را کاهش می دهد (۹). با این حال در مطالعه ای دیگر با ۸ هفته تمرین شنا با شدت ۶۵ تا ۸۵ درصد ضربان قلب بیشینه تغییری در آنزیم های کبدی (AST و ALT) زنان جوان گزارش نشد (۱۰). حتی در مطالعه ای دیگر، تمرین عضلانی باعث افزایش نسبت AST/ALT شده بود (۱۱). همانطور که از نتایج تحقیقات فوق مشاهده می شود درباره اثر تمرینات ورزشی بر مقادیر آنزیم های کبدی نتایج متناقضی ارائه شده است. همچنین با بررسی های انجام شده درباره اثر مکمل دهی کلرلا و تمرینات هوازی بر آنزیم های کبدی و مقادیر چربی های خون، تحقیقی در این زمینه مشاهده نشده است و در محدود تحقیقات انجام شده تنها به بررسی اثر مکمل کلرلا بر مقادیر آنزیم های کبدی و عوامل خطرزای قلبی - عروقی اشاره شده است. Panahi و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه ای روی بیماران مبتلا به بیماری کبد چرب غیرالکلی کاهش مقادیر تری گلیسیرید، AST و ALT سرمی را بدنبال مصرف مکمل کلرلا ولگاریس (۱۲۰۰ میلی گرم) به مدت سه ماه گزارش کردند (۱۲). در مطالعه ای دیگر Ebrahimi و همکاران با بررسی روی بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی به این نتیجه رسیدند که کاهش وزن ناشی از مکمل دهی کلرلا ولگاریس (۱۲۰۰ میلی گرم) به مدت دو ماه در بهبود سطوح آنزیم های کبدی دخیل می باشد (۱۳).

با این تفاسیر و تناقض یا کمبود تحقیقات موجود در زمینه تأثیر مکمل دهی کلرلا و تمرینات ورزشی بر آنزیم های کبدی و همچنین با اشاره به این موضوع که در اکثر پژوهش های آسیب های کبدی از آزمودنی های حیوانی و یا مردان استفاده شده است، این تحقیق بر آن است تا تأثیر یک دوره هشت هفته ای فعالیت ورزشی و مکمل دهی کلرلا را بر برخی شاخص های کبدی

تصادفی و براساس وزن و درصد چربی در ۴ گروه همگن کنترل (رژیم غذایی معمولی بدون انجام تمرین)، تمرین (رژیم غذایی معمولی و انجام تمرینات استقامتی)، مصرف کلرلا (دریافت روزانه ۶۰۰ میلی‌گرم قرص کلرلا بدون انجام تمرین)، مصرف کلرلا و تمرین (دریافت روزانه ۶۰۰ میلی‌گرم قرص کلرلا و انجام تمرینات استقامتی) قرار گرفتند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، آزمودنی‌های هر چهار گروه به صورت ناشتا در آزمایشگاه حضور یافتند تا نمونه خون نهایی از آزمودنی‌ها اخذ شود. خون‌گیری توسط تکنیسین آزمایشگاهی از سیاهرگ میانی دست راست گرفته شد و بلافاصله جهت تعیین تأثیر متغیرهای مستقل بر متغیرهای وابسته به آزمایشگاه منتقل شد.

برنامه تمرینی

پس از اندازه‌گیری مشخصات توصیفی آزمودنی‌ها، گروه‌های تمرین و تمرین + کلرلا سه جلسه در هفته به مدت هشت هفته در برنامه تمرینی استقامتی شرکت کردند. این برنامه از تمرینات ساده به مشکل و از شدت کم به شدت بالا و با در نظر گرفتن اصل اضافه بار و افزایش شدت تمرین انجام گردید. برنامه تمرین استقامتی شامل دویدن میدانی بود که در هفته اول و دوم، آزمودنی‌ها به مدت ۲۵ دقیقه با شدت ۶۵ درصد ضربان قلب بیشینه (MAXIMUM HEART RATE) فعالیت کردند. در هفته ۳ تا ۶ تمرین به مدت ۳۵ دقیقه با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد و در هفته ۶ تا ۸ به مدت ۴۰ دقیقه با شدت ۷۵ تا ۸۵ درصد ضربان قلب بیشینه انجام شد. کنترل شدت تمرین با استفاده از ضربان سنج پلار انجام شد و حداکثر ضربان قلب نیز از طریق (سن-۲۲۰) محاسبه گردید. آزمودنی‌ها قبل از هر جلسه تمرین اصلی، ۱۵ دقیقه به گرم کردن پرداخته و در انتهای هر جلسه نیز ۱۰ دقیقه به انجام حرکات سرد کردن، برای برگشت به حالت اولیه پرداختند.

نحوه مکمل‌دهی کلرلا

در این پژوهش، مکمل‌دهی به شکل قرص، روزانه ۶۰۰ میلی‌گرم در دو وعده غذایی صبح و شب (در هر وعده ۳۰۰ میلی‌گرم ترجیحاً قبل از غذا) انجام شد. قرص‌های آماده ۳۰۰ میلی‌گرمی مکمل کلرلا در بسته‌های ۱۰۰ تایی آلگومد (ساخت کشور آلمان) بود که از شرکت فردای سبز ایرانیان (وارد کننده انحصاری در ایران) خریداری شده بود. ترکیبات تشکیل دهنده یک گرم کلرلا (۴ عدد قرص کلرلا) در جدول ۱ نشان داده شده است.

اندازه‌گیری متغیرهای وابسته

جهت سنجش قد، وزن و ضخامت چین‌های پوستی آزمودنی‌ها به ترتیب از ترازو و قدسنج SECA ساخت کشور آلمان به ترتیب با دقت ۰/۰۱ سانتی‌متر و ۰/۰۱ کیلوگرم و کالیبر BATY استفاده

در زنان میانسال دیابتی نوع دو مورد بررسی قرار داده و به سؤالات اساسی در این زمینه پاسخ دهد.

روش کار

روش تحقیق حاضر نیمه تجربی می‌باشد. جامعه آماری تحقیق حاضر از زنان میانسال دیابتی نوع دو مرکز بهداشت شادپور تبریز تشکیل شده بود. در ابتدا با هماهنگی با مرکز بهداشت استان و مراجعه به مرکز بهداشت شادپور پرونده و شماره تماس بیماران دیابتی در اختیار محقق قرار گرفت. سپس هماهنگی اولیه برای حضور بیماران در کلینیک و توضیحات در خصوص طرح پژوهشی به عمل آمد و در نهایت از بین داوطلبانی که واجد شرایط شرکت در این تحقیق بودند ۴۰ نفر بصورت تصادفی به عنوان نمونه آماری انتخاب شدند و بصورت تخصیص تصادفی در یکی از ۴ گروه تمرینی قرار گرفتند. معیارهای ورود آزمودنی‌ها در طرح حاضر عبارت بودند از: قرار داشتن در محدوده سنی ۴۵ تا ۶۵ سال، غیر فعال بودن و نداشتن سابقه فعالیت ورزشی منظم در ۶ ماه گذشته، شاخص توده بدنی بالاتر از ۲۵، داشتن حداقل ۵ سال سابقه بیماری دیابت نوع دو، داشتن قند خون ناشتای بیش از ۱۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر. معیارهای خروج از مطالعه نیز شامل ابتلا به بیماری‌های کلیوی، قلبی-عروقی، پاراتیروئید و گوارشی بود. در ضمن تعداد آزمودنی‌ها در هر گروه با توجه به تحقیقات نیمه تجربی مشابه قبلی ۱۰ نفر در نظر گرفته شد.

در ابتدا اهداف و روش اجرای تحقیق به روشنی برای آزمودنی‌ها توضیح داده شد و از آن‌ها درخواست شد تا با مطالعه دقیق فرم رضایت نامه شرکت در طرح در صورت وجود هرگونه ابهامی سؤالات خود را طرح کرده و سپس فرم را امضا کنند. در این فرم به آزمودنی‌ها اطمینان داده شده بود که در هر زمانی بدون ارائه دلایل می‌توانند از ادامه شرکت در طرح کناره‌گیری کنند. همچنین از آزمودنی‌ها خواسته شد پرسشنامه سلامت فردی و سابقه پزشکی را به عنوان وسیله پایش آزمودنی‌ها قبل از شرکت در تحقیق تکمیل نمایند. همه آزمودنی‌ها در طول اجرای تحقیق از مصرف داروهایی از قبیل ایبوپروفن، استامینوفن، آسپرین و همچنین مصرف الکل، کافئین یا نسکافه در فاصله ۲۴ ساعت قبل از جلسات خون‌گیری منع شدند. همچنین از آزمودنی‌ها خواسته شده بود قبل از جلسات خون‌گیری شام را در ساعت هشت شب صرف کرده و از ساعت ۱۲ شب به بعد چیزی میل نکنند و در حالت ناشتا برای خون‌گیری مراجعه نمایند. آزمودنی‌ها یک هفته قبل از شروع پروتکل تمرینی در محل آزمایشگاه حضور یافته و پس از اخذ نمونه خونی اول (۵ میلی‌لیتر) از ورید آنته‌کوبیتال، در سنجش ویژگی‌های عمومی شامل قد، وزن، شاخص توده بدنی (BMI) و درصد چربی با روش برآورد سه نقطه‌ای جکسون و پولاک شرکت کردند. سپس آزمودنی‌ها به صورت تخصیص

استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 21 در سطح معنی داری $\alpha < 0/05$ انجام شد.

یافته‌ها

نتایج آزمون کلموگروف اسمیرنوف حاکی از آن بود که داده‌های جمع‌آوری شده نرمال بوده و منحنی مربوط به این نمونه طبیعی فرض شد ($p > 0/05$). لذا در بخش استنباطی از آزمون‌های پارامتریک برای بررسی تغییرات شاخص‌های مورد نظر استفاده شد. همچنین، آزمون لون نشان داد که در واریانس‌های شاخص‌های مورد بررسی بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی داری وجود ندارد. در جدول ۲ مقادیر متغیرهای وابسته تحقیق در ۴ گروه ارائه شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که علی رغم کاهش وزن و شاخص توده بدنی در گروه‌های تمرینی و مصرف مکمل به لحاظ آماری تفاوت معنی داری در ۴ گروه مشاهده نشد ($P > 0/05$). اما بین تغییرات درصد چربی در دو مرحله پیش آزمون و پس آزمون تفاوت معناداری در گروه‌های مختلف مشاهده شد ($P = 0/021$) و درصد چربی در گروه کلرلا در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری داشت ($P = 0/042$). همچنین نتایج تحقیق نشان داد که بین تغییرات آنزیم AST در دو مرحله پیش آزمون و پس آزمون تفاوت معنی داری در گروه‌های مختلف مشاهده شد ($F = 4/740$, $P = 0/007$) و مقدار AST در گروه کلرلا در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری داشت ($P = 0/004$). در مقادیر ALT نیز نتایج نشان داد که در ۴ گروه تفاوت معنی دار وجود دارد ($F = 4/308$, $P = 0/011$). همچنین مقدار ALT در هر دو گروه کلرلا ($P = 0/022$) و تمرین + کلرلا ($P = 0/027$) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت. در مقادیر ALP نیز نتایج نشان داد که در ۴ گروه تفاوت معنی دار وجود دارد ($F = 4/495$, $P = 0/009$). مقدار ALP در گروه کلرلا نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت ($P = 0/006$).

شد. همچنین برای سنجش زمان تمرین و کنترل ضربان قلب آزمودنی‌ها به ترتیب از زمان‌سنج دیجیتالی Joerex و ضربان‌سنج دیجیتالی Polar ساخت کشور فنلاند استفاده شد. به منظور تعیین درصد چربی آزمودنی‌ها از فرمول سه نقطه‌ای Jackson/Pollock (۱۹۷۶) (سه سر بازوئی، ران، فوق خاصره) استفاده شد. همه اندازه‌گیری‌های چین پوستی در طرف راست بدن و در حالت استراحت انجام شد. پس از تعیین میزان ضخامت‌های چین پوستی با دستگاه ضخامت‌سنج، میانگین دو بار اندازه‌گیری هر نقطه از بدن در فرمول مربوطه قرار داده شد تا درصد چربی هر کدام از آزمودنی‌ها به دست آمد. در صورت صورت داشتن خطای بیش از ۵ درصدی در دو مرحله، اندازه‌گیری برای بار سوم انجام و میانگین سه مرحله به عنوان ضخامت چین زیر پوستی نقطه ثبت گردید. برای خون‌گیری از ظرف مخصوص حمل نمونه‌های خونی، سرنگ ۱۰ سی سی، لوله آزمایش و الککل سفید استفاده شد. سپس جهت جداسازی سرم از نمونه‌های خونی گرفته شده از آزمودنی‌ها از دستگاه سانتریفوژ Hettich آلمان، برای اندازه‌گیری مقادیر آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP از دستگاه اتو آنالایزر Hitachi ژاپن مدل ۹۱۲ و کیت‌های شرکت پارس آزمون استفاده شد. ضریب تغییرات و حساسیت این کیت‌های آزمایشگاهی برای آنزیم ALT به ترتیب $CV < 7\%$ ، $CV = 4\%$ (واحد)، برای آنزیم AST $CV < 5\%$ ، $CV = 2\%$ (واحد)، و برای آنزیم ALP $CV = 1/60$ (واحد)، گزارش شده است. مقادیر نرمال فعالیت آنزیم ALT در زنان تا $31 IU/L$ براساس کیت‌های شرکت پارس آزمون می‌باشد. همچنین، مقادیر نرمال فعالیت آنزیم AST در زنان تا $31 IU/L$ و آنزیم ALP در زنان $300-64 IU/L$ می‌باشد. در بخش تجزیه و تحلیل داده‌ها، ابتدا طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف اسمیرنوف بررسی شد. سپس جهت تعیین تأثیر تمرین استقامتی و مکمل دهی کلرلا بر تغییرات فاکتورهای مورد نظر، از تحلیل واریانس (ANOVA) یک طرفه و آزمون پس تعقیبی توکی

جدول ۱: ترکیبات تشکیل دهنده یک گرم کلرلا

ماده تشکیل دهنده	مقدار	ماده تشکیل دهنده	مقدار
پروتئین	۵۰۰-۶۰۰ میلی گرم	کلسیم	۲ میلی گرم
چربی	۷۰-۱۲۰ میلی گرم	منیزیم	۳ میلی گرم
کربوهیدرات	۱۵۰-۲۵۰ میلی گرم	پتاسیم	۰/۳ میلی گرم
فیبر	۲۰-۶۰ میلی گرم	آهن	۱/۲ میلی گرم
کلروفیل	۲۰-۶۰ میلی گرم	روی	۰/۷ میلی گرم
بتاکاروتن	۲ میلی گرم	بیوتین	۱/۹۲ میکروگرم
ویتامین C	۰/۲۲ میلی گرم	اسید فولیک	۰/۲۶۹ میکروگرم
ویتامین E	۰/۱ میلی گرم	ویتامین B1	۲۳ میکروگرم
نیاسین	۰/۳ میلی گرم	ویتامین B2	۵۸ میکروگرم
فسفر	۸ میلی گرم	ویتامین B12	۱ میکروگرم
سدیم	۰/۴۲ میلی گرم	-	-

جدول ۲: شاخص‌های اندازه‌گیری شده در دو مرحله پیش و پس از آزمون در ۴ گروه

متغیر	کنترل	تمرین	کلرلا	تمرین + کلرلا
سن (سال)	۵۵/۶۰ ± ۴/۲۲	۵۶/۸۰ ± ۴/۲۱	۵۶/۱۰ ± ۳/۸۲	۵۵/۰۰ ± ۳/۰۱
قد (سانتی‌متر)	۱۵۷/۱۰ ± ۳/۴۴	۱۵۶/۳۰ ± ۳/۰۹	۱۵۷/۸۰ ± ۴/۹۸	۱۵۸/۳۰ ± ۶/۵۱
وزن (کیلوگرم)	۷۱/۰۰ ± ۸/۱۹	۷۴/۰۰ ± ۱۱/۱۸	۷۵/۳۰ ± ۱۲/۹۱	۷۵/۰۵ ± ۱۰/۳۷
پیش آزمون	۷۱/۴۰ ± ۷/۵۴	۷۳/۱۴ ± ۱۰/۷۸	۷۵/۲۰ ± ۱۳/۴۵	۷۴/۴۷ ± ۱۰/۵۶
درصد چربی	۳۵/۲۸ ± ۱/۳۵	۳۶/۱۹ ± ۳/۵۶	۳۵/۲۳ ± ۲/۲۱	۳۶/۵۶ ± ۱/۹۸
پس آزمون	۳۵/۵۳ ± ۱/۱۴	۳۶/۱۰ ± ۳/۴۱	* ۳۴/۹۵ ± ۲/۵۷	۳۶/۴۰ ± ۱/۷۹
شاخص توده بدنی (کیلوگرم/متر مربع)	۲۸/۷۳ ± ۲/۵۸	۳۰/۲۶ ± ۳/۸۲	۳۰/۱۹ ± ۴/۴۹	۲۹/۸۰ ± ۲/۲۶
پس آزمون	۲۸/۸۴ ± ۲/۲۶	۲۹/۸۵ ± ۳/۶۱	۳۰/۱۵ ± ۴/۸۰	۲۹/۵۷ ± ۲/۳۷
AST (IU/L)	۲۳/۹۰ ± ۶/۶۲	۲۳/۸۰ ± ۸/۲۷	۲۶/۶۰ ± ۱۵/۰۲	۲۰/۴۰ ± ۵/۷۵
پس آزمون	۲۵/۷۰ ± ۹/۳۱	۲۰/۱۰ ± ۵/۵۴	* ۱۸/۵۰ ± ۸/۸۸	۱۵/۴۰ ± ۴/۲۹
ALT (IU/L)	۲۸/۱۰ ± ۱۰/۵۵	۲۷/۲۰ ± ۱۰/۶۱	۳۱/۰۰ ± ۲۱/۶۴	۲۷/۴۰ ± ۱۱/۸۲
پس آزمون	۳۰/۶۰ ± ۱۰/۴۶	۲۳/۹۰ ± ۹/۳۹	* ۲۲/۱۰ ± ۱۶/۳۴	* ۱۸/۸۰ ± ۸/۵۴
ALP (IU/L)	۱۶۸/۹۰ ± ۳۷/۹۸	۱۴۷/۰۰ ± ۳۳/۲۷	۱۷۸/۳۰ ± ۶۲/۲۸	۱۴۶/۳۰ ± ۳۴/۳۲
پس آزمون	۱۷۸/۴۰ ± ۳۰/۱۷	۱۳۵/۴۰ ± ۳۵/۳۱	* ۱۴۸/۲۰ ± ۳۴/۹۷	۱۴۳/۹۰ ± ۳۳/۰۷

*. بیانگر تغییرات معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

بحث

بیماری‌های کبدی مهم‌ترین دلیل افزایش ترانس آمینازها در سرم هستند (۱۴). آنزیم‌های AST و ALT از آنزیم‌های درگیر در سوخت‌وساز کبدی هستند و به طور کلی افزایش آن‌ها شاخصی از بیماری سلول‌های کبدی می‌باشد. افزایش آنزیم ALP نیز نشان دهنده بیماری کبد و مسیر صفراوی است (۱۵). در اکثر انواع بیماری‌ها فعالیت ALT بیشتر از AST می‌باشد، زیرا افزایش فعالیت ALT برای مدت طولانی‌تری نسبت به افزایش فعالیت AST پایدار می‌ماند (۱۴). در موارد آسیب خفیف سلول‌های کبدی سطح ALP ممکن است تغییر نکند و یا تنها به طور خفیفی بالا رود، اما در بیماری حاد کبد، بیماری‌های مربوط به کیسه صفرا و استخوان به طرز آشکاری افزایش می‌یابد (۱۵).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تغییرات آنزیم AST در گروه مصرف‌کننده مکمل تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشت و در طول ۸ هفته کاهش معنی‌داری یافته بود. اما تغییرات این آنزیم در گروه‌های تمرین هوازی و تمرین هوازی + مکمل کلرلا تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت. این یافته‌ها با نتایج برخی مطالعات از جمله Barani و همکاران، Ranjbar و همکاران و Talebipour و همکاران همسو بود (۱۴، ۱۵، ۱۶). Barani و همکاران در مطالعه‌ای گزارش کردند که هشت هفته تمرین مقاومتی و تمرین ترکیبی (مقاومتی + هوازی) باعث تغییر معنی‌داری در مقادیر آنزیم AST زنان دارای بیماری کبد چرب غیر الکلی نمی‌شود (۱۴). از دلایل عدم مشاهده تغییر معنادار در آنزیم AST می‌توان به این موارد اشاره کرد که در آن مطالعه زنان دارای بیماری کبد چرب غیر الکلی مورد بررسی قرار گرفتند که این افراد به دلیل بیماری دچار خستگی می‌شدند. همچنین نوع و مدت و

شدت فعالیت ورزشی بر فعالیت آنزیم‌ها موثر بود. آمینوترانسفرازها در سرم طبیعی، فعالیت اندکی دارند و در اثر تمرینات و رقابت‌های استقامتی کوتاه‌مدت و شدید مقادیر آنزیم‌های فوق افزایش می‌یابد. یکی از اندام‌های درگیر در فعالیت‌های ورزشی گوناگون کبد است که ممکن است میزان آنزیم‌های آن پس از ورزش افزایش یابد. آنزیم AST از آنزیم‌های درگیر در سوخت‌وساز کبدی هستند. چون کبد در فعالیتهای استقامتی بیشتر از دیگر فعالیتهای نقش ایفا می‌کند، بنابراین احتمال آسیب غشای سلول‌های کبدی در فعالیت‌های دراز مدت و استقامتی زیاد است.

Ranjbar و همکاران نیز در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که ۱۰ هفته تمرین هوازی تأثیر معنی‌داری بر مقادیر آنزیم AST موش‌های صحرایی مبتلا به انفارکتوس قلبی ندارد (۱۵). یکی از دلایل عدم کاهش آنزیم‌های کبدی در این مطالعه ناشی از عدم تغییر پروتئین شوک گرمایی است. در نهایت این احتمال وجود داشت که تأثیرات مثبت و منفی تمرینات استقامتی بر عملکرد کبد در موش‌های با انفارکتوس قلبی نتوانسته‌اند بر همدیگر غلبه نمایند و این عامل می‌تواند از دلایل عدم کاهش آنزیم‌های کبدی در پاسخ به تمرینات هوازی تداومی باشد. Talebipour و همکاران نیز دریافتند که ۸ هفته مکمل‌دهی کلرلا باعث کاهش معنی‌دار مقادیر AST بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی می‌شود (۱۶). اما در رابطه با تغییرات آنزیم AST در اثر تمرینات ورزشی و مصرف مکمل کلرلا نتایج برخی تحقیقات با مطالعه حاضر و تحقیقات ذکر شده در فوق دارای تناقض می‌باشد (۱۷، ۱۸). Izadi و همکاران نیز دریافتند که ۱۰ هفته تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل چای سبز باعث افزایش معنی‌دار AST در زنان

Barani و همکاران نیز گزارش کردند که پس از هشت هفته تمرین مقاومتی و ترکیبی بین گروه تمرین و کنترل تفاوت معنی داری وجود نداشت (۱۴). با این حال نتایج برخی مطالعات با تحقیق حاضر و موارد ذکر شده ناهمسو می باشد. Barzegarzadeh و همکاران گزارش کردند که ۶ و ۱۲ هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی باعث افزایش معنی دار مقادیر آنزیم ALP موش های صحرایی مسن می شود (۲۱) که این تفاوت احتمالاً می تواند ناشی از نوع آزمودنی (انسانی یا حیوانی) مورد استفاده باشد. به علاوه، Panahi و همکاران در مطالعه ای به این نتیجه رسیدند که هشت هفته مصرف مکمل کلرلا باعث افزایش معنی دار ALP افراد مبتلا به نارسایی چربی خون می شود (۱۸). مطالعات نشان می دهد که ALP علاوه بر کبد در استخوان، روده کوچک و کلیه نیز یافت می شود، بنابراین این احتمال وجود دارد که افزایش ALP در برخی مطالعات به دلیل افزایش فعالیت این بافت ها باشد (۱۵).

اگرچه مکانیسم عمل کلرلا و لگاریس بر آنزیم های کبدی مشخص نیست، ولی به نظر می رسد کاهش درصد چربی ناشی از مکمل دهی کلرلا در بهبود سطوح آنزیم های کبدی دخیل باشد. نتایج این مطالعات حاکی از آن است که کاهش چربی بدن سبب تغییر قابل ملاحظه آنزیم های کبدی و نرمال کردن سطح آن ها در اکثر موارد می شود (۱۳، ۲۲). اگر چه مکانیسم دقیق تأثیر کلرلا بر در صد چربی بدن ناشناخته است، ولی کاهش چربی بر ترکیبات پلی فنولی موجود در کلرلا نسبت داده می شود که از طریق کاهش سطح mRNA آنزیم های اسید چرب سنتز و آسیدل کوآ کربوکسیلاز، بتا اکسیداسیون و لیپولیز سلول های چربی ناشی از نورایی نفرین را افزایش می دهد (۲۳، ۱۳) به علاوه، پلی فنول ها اثر مهاری بر لیپاز پانکراس داشته و از جذب چربی در روده جلوگیری می کنند و از تمایز پری آدیپوسیت ها به آدیپوسیت ها جلوگیری می کنند (۲۴). برخی مطالعات اشاره کرده اند که کاهش در صد چربی احتمالاً از طریق تأثیر بر مقاومت انسولین موجب بهبودی آنزیم های کبدی می شود (۲۵، ۱۳). به طور کلی نتایج مطالعات صورت گرفته نشان می دهد که در پاسخ به فعالیت حاد با شدت بالا میزان آنزیم های کبدی افزایش می یابد، در حالی که با سازگازی به تمرینات ورزشی این افزایش در میزان آنزیم ها از بین می رود (۲۶، ۱۵).

در رابطه با این که چرا در این مطالعه تمرینات استقامتی نتوانست موجب کاهش سطوح آنزیم های کبدی شود، یکی از احتمالات این است که تمرینات ورزشی از طریق کاهش تولید رادیکال های آزاد و افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی موجب بهبود استرس اکسایشی می شوند و از این طریق موجب بهبود عملکرد بافت کبد می شوند (۱۵). اما توجه به این نکته لازم است که برخی مطالعات نشان داده اند که تمرینات استقامتی کمترین اثر را بر سیستم آنتی اکسیدانی سلول های کبدی نسبت به سایر اندام های

چاق دیابتی می شود (۱۷) که این محققین علت اصلی این افزایش را به مکمل چای سبز نسبت داده بودند. نتایج مطالعه Panahi و همکاران حاکی از این بود که هشت هفته مصرف مکمل کلرلا باعث افزایش معنی دار AST در افراد مبتلا به نارسایی چربی خون می شود (۱۸) که با مطالعه حاضر در تضاد می باشد. علت این اختلاف احتمالاً ناشی از تفاوت در نوع آزمودنی های به کار گرفته شده باشد، زیرا آزمودنی های مطالعه پناهی و همکاران مبتلا به نارسایی چربی خون بودند.

در رابطه با آنزیم ALT، نتایج این مطالعه بیانگر این بود که دامنه تغییرات آنزیم ALT در گروه مصرف کننده مکمل و گروه تمرین هوازی + مصرف مکمل تفاوت معنی داری با گروه کنترل داشت و در طول ۸ هفته کاهش پیدا کرده بود. اما دامنه اختلاف تغییرات این آنزیم در گروه تمرین هوازی تفاوت معنی داری با گروه کنترل نداشت. این نتایج با یافته های بعضی از مطالعات همراستا می باشد. به عنوان مثال Fathei و همکاران گزارش کردند که پس از هشت هفته تمرین هوازی، مقدار آنزیم ALT گروه تمرین و کنترل تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند (۱). همچنین Talebipour و همکاران در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که مصرف مکمل کلرلا به مدت هشت هفته باعث کاهش معنی دار مقادیر ALT بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی می شود (۱۶). با این وجود نتایج برخی مطالعات با تحقیق حاضر در تناقض می باشد. به عنوان مثال، Panahi و همکاران گزارش کردند که هشت هفته مکمل دهی کلرلا باعث تغییر معنی داری در مقادیر آنزیم ALT افراد مبتلا به نارسایی چربی خون نمی شود (۱۸). یکی از دلایل احتمالی این تفاوت می تواند ناشی از مصرف داروی پایین آورنده کلسترول به همراه مکمل کلرلا توسط آزمودنی های مطالعه Panahi باشد. Skrypnik و همکاران نیز دریافتند که سه ماه تمرین استقامتی باعث افزایش معنی دار ALT زنان دارای چاقی شکمی می شود (۱۹). مدت تمرینات ورزشی به کار رفته شاید یکی از دلایل ناهمخوانی مطالعه حاضر با نتایج تحقیق Skrypnik و همکاران باشد، زیرا پروتکل تمرینی آن ها یک ماه طولانی تر از این مطالعه بود.

نتایج مطالعه حاضر در رابطه با آنزیم ALP نشان داد که دامنه تغییر ALP در گروه مصرف کننده مکمل تفاوت معنی داری با گروه کنترل داشت و در طول ۸ هفته کاهش معنی داری یافته بود. اما دامنه تغییرات این آنزیم در گروه های تمرین هوازی و تمرین هوازی + مکمل کلرلا تفاوت معنی داری با گروه کنترل نداشت. نتایج برخی مطالعات قبلی در این زمینه با مطالعه حاضر همسو می باشد. Farzanegi و همکاران گزارش کردند که با وجود عدم تفاوت معنی دار گروه تمرین و کنترل پس از شش هفته تمرین هوازی در زنان یائسه گروه تمرین کاهش معنی داری یافته بود (۲۰). همچنین

به طور چشمگیری کاهش می‌یابد. در نتیجه هنگام فعالیت ورزشی AMPK فعال می‌شود و فعالیت آن بعد از اتمام فعالیت ورزشی در عضله، کبد و بافت چربی باقی می‌ماند. فعال شدن AMPK در کبد سبب چربی‌ها را مهار می‌کند که این عمل از طریق غیرفعال کردن آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز، فعال کردن آنزیم مانوئیل کوآ دکربوکسیلاز و مهار بیان ژن آنزیم‌های لیپوژنیک شامل استیل کوآ کربوکسیلاز و اسید چرب سنتتاز انجام می‌شود (۱). همچنین کاهش مالونیل کوآ که یک مهار کننده آلوستریک CPT-1 می‌باشد باعث تحریک اکسیداسیون چربی‌ها در کبد می‌شود. پس می‌توان کاهش معنی‌دار آنزیم ALT در گروه تمرین+مکمل کلرلا را به حساسیت به انسولین بافتی و کبدی و نیز کاهش چربی کبدی نسبت داد. زیرا تمرین ورزشی منظم باعث افزایش میزان انرژی مصرفی روزانه، بهبود و افزایش اکسیداسیون چربی‌ها در عضلات اسکلتی و میتوکندری هپاتوسیت‌ها، سوخت‌وساز بیشتر دخایر چربی احشایی و توزیع مجدد دخایر چربی در بدن که باعث کاهش چاقی احشایی و تشدید پاسخ‌دهی به انسولین در بافت چربی می‌شود که نتیجه آن کاهش تراوش اسیدهای چرب آزاد به داخل کبد، کاهش رسوب چربی در کبد و افزایش اکسیداسیون چربی در کبد می‌شود (۱). تمرین هوازی ممکن است علاوه بر تنظیم مثبت دفاع ضد اکسایشی، از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب منجر به کاهش بیشتر سطوح آنزیم‌های کبدی شود. شاید علت عدم تأثیر گذاری تمرینات هوازی بر شاخص‌های آسیب کبدی بر مدت زمان کمتر تمرینات هوازی و همچنین در مقادیر تقریباً طبیعی آنزیم‌های کبدی در بیماران دیابتی تحقیق حاضر باشد (۱۴). لذا به نظر می‌رسد با اجرای برنامه تمرینات هوازی در دوره طولانی و روی بیماران دیابتی که دارای عارضه کبدی نیز می‌باشند بتوان به نتایج دقیقتری دست پیدا کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر بیانگر این بود که مصرف مکمل کلرلا در مقایسه با تمرین هوازی تأثیر بیشتری بر آنزیم‌های کبدی داشت. با این حال، با توجه به یافته‌های موافق و مخالف سایر مطالعات، اظهار نظر قطعی در مورد تأثیر تمرین استقامتی و مصرف مکمل کلرلا بر آنزیم‌های کبدی منوط به انجام تحقیقات و مطالعات بیشتر در این زمینه می‌باشد.

قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از مرکز بهداشت شهرستان تبریز و سرکار خانم داهیم و جناب آقای دکتر کیانی فوق تخصص غدد که در اجرای این طرح همکاری شایسته‌ای داشتند و از مرکز بهداشت شادپور که بیماران را در اختیار محقق گذاشتند و همچنین از شرکت فردای سبز ایرانیان نماینده شرکت آگومد (تهران، ایران)

دیگر از جمله مغز، عضله اسکلتی و قلب دارد (۲۷). به علاوه، این نتایج متفاوت ممکن است به دلیل تفاوت در ویژگی‌های فردی مثل تفاوت سنی، شرایط آمادگی جسمانی آزمودنی‌ها و وجود سطوح پایه بالاتر یا طبیعی آنزیم‌های کبدی در شرکت‌کنندگان باشد. با توجه به محدوده‌های مرجع برای آنزیم‌ها، مشاهده می‌شود که سطوح پایه آن‌ها با هم متفاوت هستند و این می‌تواند یکی از دلایل تفاوت در تغییر مقادیر این آنزیم‌ها باشد (۱۴). از طرف دیگر، نوع، شدت و مدت تمرینات ورزشی به کار رفته و نیز سالم یا بیمار بودن آزمودنی‌ها نیز اثرات متفاوتی بر سیستم‌های ترشحی و متابولسمی می‌گذارد که این امر شاید یکی از دلایل ناهمخوانی مطالعه حاضر با نتایج سایر تحقیقات باشد (۱۴، ۱۵). همچنین، مداخلات محیطی نیز می‌تواند در نتایج مؤثر باشد که شامل شرایط آب و هوایی، موقعیت زمانی و مکانی اجرای تمرینات و محرک‌های محیطی از قبیل استرس و هیجانات باشد (۱۴). به علاوه در رابطه با وجود تناقضات مشاهده شده می‌توان به این مورد اشاره کرد که روش‌های آزمایشگاهی نیز در نتایج تأثیر گذار هستند. زیرا نیمه عمر و شرایط نگهداری و اندازه‌گیری هر کدام از آنزیم‌ها با یکدیگر متفاوت هستند و عدم توجه و دقت کافی به این مسئله می‌تواند سبب تغییر نتایج شود (۲۰). مثلاً در مورد تغییر ALP در پاسخ به تمرینات ورزشی لازم به ذکر است که آنزیم‌های AST و ALT نسبت به آنزیم ALP شاخص دقیق‌تری در تشخیص اختلالات بافت کبدی هستند و در موارد آسیب خفیف سلول‌های کبدی، سطح ALP ممکن است تغییر نکند (۱۵). بعلاوه، یکی دیگر از عواملی که میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی در پاسخ به تمرینات ورزشی منظم را تنظیم می‌کند پروتئین شوک گرمایی است. در این راستا نشان داده شده است که تمرین استقامتی با تولید HSP70 از افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های AST و ALT پلاسمایی ممانعت به عمل می‌آورد (۱۵).

در نهایت اشاره به این مورد ضروری است که از جمله مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده آسیب‌های کبدی مقاومت به انسولین می‌باشد که با فاکتورهای مختلف سندروم متابولیک ارتباط دارد. این وضعیت حتی در شرایط نبود چاقی و دیابت نوع دوم نیز مشاهده شده است و برخی مطالعات به رابطه منفی بین حساسیت به انسولین و تجمع چربی در کبد اشاره کرده‌اند (۲۹، ۲۸). فعالیت ورزشی می‌تواند اکسیداسیون چربی‌ها را تحریک کرده و سبب چربی‌ها در کبد را مهار کند که این اعمال به واسطه فعال سازی مسیر AMPK انجام می‌شود (۱). این آنزیم با افزایش نسبت AMP به ATP در بافت‌ها فعال می‌شود که ناشی از تحریک فیزیولوژیکی فعالیت ورزشی می‌باشد. محققان گزارش کرده‌اند که شرط اصلی فعال شدن مسیر AMPK هنگام فعالیت ورزشی کاهش و فقدان فعالیت SCD-1 در کبد می‌باشد (۳۰). اخیراً مطالعات گزارش کرده‌اند که فعالیت SCD-1 در کبد موش‌ها بعد از فعالیت ورزشی

منافع متقابل

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

مشارکت مولفان

ج و، را و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشت. ج و، را و همکاران همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

بدلیل تهیه مکمل کلرلا ولگاریس و از کلیه عزیزانی که در این طرح ما را یاری کردند اعلام می‌دارند. شماره پایان‌نامه: این مقاله نتیجه پایان نامه تحقیقاتی خانم فاطمه اردی‌بازار مصوب در صورت جلسه شماره ۵/۴۹ دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز می‌باشد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز در استان آذربایجان شرقی به شماره مرجع TBZMED.REC.1394.616 به تایید رسیده است.

منابع مالی

منابع مالی ندارد.

References

1. Fathei M, Khairabadi S, Ramezani F, Hejazi K. The effects of eight weeks aerobic training, green tea supplementation and compound of them on serum liver enzymes and apolipoproteins in inactive overweight women. *Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences* 2016; **59**(2): 114-123.
2. Miki T, Yuda S, Kouzu H, Miura T. Diabetic Cardiomyopathy: Pathophysiology and clinical features. *Heart Failure Reviews* 2013; **18**: 149-166.
3. Giannini E G, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *Canadian Medical Association Journal* 2005; **172**(3): 367-379. doi: 10.1503/cmaj.1040752
4. Park H J, Bruno R S. Hepatoprotective activities of green tea in nonalcoholic fatty liver disease. *Agro Food Industry High-Tech* 2010; **21**(1): 37-40.
5. Guzman S, Gato A, Calleja J M. Anti inflammatory, analgesic and free radical scavenging activities of the marine microalgae *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Phytotherapy Research* 2001; **15**: 224-230. doi: 10.1002/ptr.715
6. Queiroz MLS, Torello C O, Perhs SMC, Rocha M C, Bechara EJH, Morgano M A, et al. *Chlorella vulgaris* up-modulation of myelossuppression induced by lead: The role of stromal cells. *Food Chem Toxicol* 2008; **46**(9): 3147-3154. doi: 10.1016/j.fct.2008.07.005
7. Queiroz M L, Da Rocha M C, Torello C O, de Souza Queiroz J, Bincoletto C, Morgano M A, et al. *Chlorella Vulgaris* restores bone marrow cellularity and cytokine production in lead-exposed mice. *Food Chem Toxicol* 2011; **49**(11): 2934-2941.
8. Eriksson P, Reynisdottir S, Lönnqvist F, Stemme V, Hamsten A, Arner P. Adipose tissue secretion of plasminogen activator inhibitor-1 in non-obese and obese individuals. *Diabetologia* 1998; **41**(1): 65-71.
9. Davoodi M, Moosavi H, Nikbakht M. The effect of eight weeks selected aerobic exercise on liver parenchyma and liver enzymes (AST, ALT) of fat liver patients. *J Shahrekord Uunive Med Sci [Research]* 2012; **14**: 84-90. doi: 10.1007/s001250050868
10. Bijeh N, Rashid Lamir A, Sadeghynia S, Hejazi K. The effect of eight weeks swimming training on hepatic enzymes and Hematological Values in Young Female. *International Journal of Basic Sciences & Applied Research* 2013; **2**(1): 123-128.
11. Pettersson J, Hindorf U, Persson P, Bengtsson T, Malmqvist U, Werkström V, et al. Muscular exercise can cause highly pathological liver function tests in healthy men. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2008; **65**(2): 253-259. doi: 10.1111/j.1365-2125.2007.03001.x
12. Panahi Y, Ghamarchehreh M E, Beiraghdar F, Zare R, Jalalian H R, Sahebkar A. Investigation of the effects of *Chlorella vulgaris* supplementation in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized clinical trial. *Hepato-gastroenterology* 2012; **59**(119): 2099-2103. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2011.08.275
13. Ebrahimi-Mameghani M, Aliashrafi S, Javadzadeh Y, Asghari Jafarabadi M. The Effect of *Chlorella Vulgaris* Supplementation on Liver Enzymes, Serum Glucose and Lipid Profile in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Health Promot Perspect* 2014; **4**(1): 107-115.
14. Barani F, Afzalpour M E, Ilbiegi S, Kazemi T, Mohammadi Fard M. The effect of resistance and combined exercise on serum levels of liver enzymes and fitness indicators in women with nonalcoholic fatty liver disease. *J Birjand Univ Med Sci* 2014; **21**(2): 188-202.
15. Ranjbar K, Nazem F, Hashemi S. Effect of Continuous Aerobic Training on Serum Levels of Liver Injury Indices in Rats with Myocardial Infarction. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2016; **18**(1): 46-53.

16. Talebi Pour B, Jameshorani M, Salmani R, Chiti H. The Effect of Chlorella Vulgaris vs. Artichoke on Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): A Randomized Clinical Trial. *ZUMS Journal* 2015; **23**(100): 36-44.
17. Izadi Ghahfarokhi M, Mogharnasi M, Faramarzi M. The impact of 10 weeks of aerobic exercise and supplementation of green tea on lipid profile, insulin resistance and liver nzymes (GGT, ALT, AST) in obese diabetic women (type 2). *Armaghane Danesh* 2015; **20**: 161-171.
18. Panahi Y, Pishgoo B, Jalalian H R, Mohammadi E, Taghipour HR, Sahebkar A, Abolhasani E. Investigation of the effects of Chlorella vulgaris as an adjunctive therapy for dyslipidemia: Results of a randomised open-label clinical trial. *Nutrition & Dietetics* 2012; **69**(1): 13-19. doi: 10.1111/j.1747-0080.2011.01569.x
19. Skrypnik D, Ratajczak M, Karolkiewicz J, Madry E, Pupek-Musialik D, Hansdorfer-Korzon R, et al. Effects of endurance and endurance-strength exercise on biochemical parameters of liver function in women with abdominal obesity. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2016; **31**: 801-807.
20. Farzanegi P, Pour Amin Z, Habibian M. Changes of Liver Trans-Aminases after a Period of Selected Aerobic Training in Postmenopausal Women. *Mljgoums* 2014; **8**(1): 22-28.
21. Barzegarzadeh-Zarandi H, Dabidy-Roshan V. Changes in some liver enzymes and blood lipid level following interval and continuous regular aerobic training in old rats. *J Shahrekord Uunive Med Sci* 2012; **14**: 13-23.
22. Bellentani S, Dalle Grave R, Suppini A, Marchesini G. Behavior Therapy for Nonalcoholic Fatty Liver Disease: the Need for a multidisciplinary Approach. *Hepatology* 2008; **47**(2): 746-754.
23. Nakazato K, Song H, Waga T. Effects of dietary apple polyphenol on adipose tissues weights in Wistar rats. *Experimental Animals* 2006; **55**(4): 383-389. doi: 10.1538/expanim.55.383
24. Meydani M, Hasan S T. Dietary polyphenols and obesity. *Nutrients* 2010; **2**(7): 737-751.
25. Bath G, Sreenivasa Baba C, Pandey A, Kumari N, Choudhuri G. Life style modification improves insulin resistance and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol* 2012; **4**(7): 209-217.
26. Straznicky N E, Lambert E A, Grima M T, Eikelis N, Nestel P J, Dawood T, et al. The effects of dietary weight loss with or without exercise training on liver enzymes in obese metabolic syndrome subjects. *Diabete Obes Metab* 2012; **14**: 139-148.
27. Liu J, Yeo H C, Overvik-Douki E, Hagen T, Doniger SJ, Chu DW, et al. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxdants. *J Appl Physiol* 2000; **89**: 21-28. doi: 10.1152/jappl.2000.89.1.21
28. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, Ragogna F, Ntali G, Esposito A, et al. Habitual physical activity is associated with intrahepatic fat content in humans. *Diabetes Care* 2007; **30**: 683-688.
29. Baba C S, Alexander G, Kalyani B, Pandey R, Rastogi S, Pandey A, et al. Effect of exercise and dietary modification on serum aminotransferase levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2006; **21**(1): 191-198. doi: 10.1111/j.1440-1746.2005.04233.x
30. Lavoie J M, Gauthier M S. Regulation of fat metabolism in the liver: link to non-alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. *Cell Mol Life Sci CMLS* 2006; **63**: 1393-1409. doi: 10.1007/s00018-006-6600-y

Case Report

Pulmonary *Nocardia asteroides* complex infection in patient whit systemic lupus erythematosus

Masoud Keikha¹ , Mehdi Khorshidi², Behnam Sisakhtpour², Sepehr Navid^{2*} 

¹Department of Medical Microbiology, Mashhad Medical University, Mashhad, Iran.

²Department of Medical Microbiology, Isfahan Medical University, Isfahan, Iran.

*Corresponding author; E-mail: sepehr_2006_70@yahoo.com

Received: 31 January 2017 Accepted: 12 February 2017 First Published online: 17 January 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March; 40(6):98-102

Abstract

A 34-year-old woman with systemic lupus erythematosus who had two kidney transplants and 4 months after the second transplant, with symptoms of fever, malaise, night sweats and chest pain was referred to Al-Zahra hospital. In lung CT scan results of this patient lesion similar fungus ball was seen and for this patient was diagnosed fungal infection. Due to loss treatment, BAL samples were taken from patients and were sent to the microbiology laboratory. Based on microscopic and phenotypic test results patients diagnosed with pulmonary nocardiosis and According to antimicrobial susceptibility testing was treated by the drug co-trimoxazole. Nocardiosis opportunistic infection in immunocompromised patients is one of the main causes of death and should be properly diagnosed.

Keywords: *Nocardia asteroides*, systemic lupus erythematosus, Corticosteroid, Infection.

How to cite this article: Keikha M, Khorshidi M, Sisakhtpour B, Navid S. [Pulmonary *Nocardia asteroides* complex infection in patient whit systemic lupus erythematosus]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 February-March;40(6):98-102. Persian.

گزارش موردی

عفونت تنفسی نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس در بیمار مبتلا به اریتماتوز سیستمیک

مسعود کیخا^۱، مهدی خورشیدی^۲، بهنام سی سخت پور^۲، سپهر نوید^{۲*}^۱گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.^۲گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

*نویسنده مسئول: ایمیل sepehr_2006_70@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۲ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۴ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۰/۲۷

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷ بهمن و اسفند؛ ۴۰(۶): ۹۸-۱۰۲

چکیده

یک خانم ۳۴ ساله مبتلا به لوپوس اریتماتوز سیستمیک با سابقه انجام دو عمل پیوند کلیه، ۴ ماه پس از دومین عمل پیوند با علایم تب، کسالت، تعریق شبانه و درد قفسه سینه به بیمارستان الزهرا اصفهان مراجعه نمود. در نتایج سی تی اسکن ریه بیمار ضایعه مشابه توب قارچی مشاهده شد و برای این بیمار عفونت قارچی تشخیص داده شد. با توجه به عدم بهبودی از بیمار نمونه BAL گرفته شد و برای آزمایشگاه میکروب شناسی ارسال شد. بر اساس بررسی میکروسکوپی و نتایج تست های فنوتیپیک بیمار با تشخیص نوکاردیوزیس ریوی و با توجه به انجام تست های حساسیت آنتی بیوتیکی توسط داروی کوتریموکسازول تحت درمان قرار گرفت. عفونت فرصت طلب نوکاردیوزیس یکی از عوامل مرگ و میر بیماران نقص سیستم ایمنی است که می بایست به درستی تشخیص داده شود.

کلید واژه ها: نوکاردیا آستروئیدس، لوپوس اریتماتوز سیستمیک، کورتیکواستروئید، عفونت.

نحوه استناد به این مقاله: کیخا م، خورشیدی م، سی سخت پور ب، نوید س. عفونت تنفسی نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس در بیمار مبتلا به اریتماتوز سیستمیک. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۶): ۹۸-۱۰۲

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو 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

نوکاردیا، باکتری پاتوژن فرصت طلب گرم مثبت، غیر متحرک، فاقد اسپور، هوازی، اسید فاست نسبی و متعلق به راسته اکتینومیسیت هاست که به صورت ساپروفیت در خاک، آب، گرد و غبار، گیاهان و فضولات حیوای در حال فساد یافت می‌شوند. گونه‌های نوکاردیا از طریق استنشاق ذرات گرد و غبار و تلقیح تروماتیک وارد بدن انسان شده و عفونت‌هایی نظیر: عفونت‌های تنفسی، جلدی، زیر جلدی، جلدی-لنفوی، مایستوما، عصبی و عفونت‌های چشم را موجب می‌شوند. بیماران دچار نقص سیستم ایمنی، بیماران مبتلا به ایدز، سرطان، دیابت، دریافت کنندگان پیوند، بیماران مبتلا به اختلالات بافت همبند (مانند لوپوس اریتماتوز سیستمیک) و مصرف‌کنندگان داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی از مهم ترین میزبانان عفونت‌های نوکاردیایی به حساب می‌آیند (۱-۴). نوکاردیا آستروئیدس شایع ترین نوکاردیایی جدا شده از بیماران است (۴). لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE) یک بیماری خود ایمنی است که چندین ارگان را درگیر می‌کند، در طی این بیماری اتو آنتی‌بادی تشکیل می‌شود و رسوب کمپلکس‌های ایمنی در بافت‌ها سبب آسیب بافتی می‌شود؛ در نتیجه این بیماران دچار التهاب مزمن سیستمیک هستند (۵-۶). به طور کلی زنان بیشتر به این بیماری مبتلا می‌شوند. این نسبت در زنان و مردان بالغ ۴ به ۱ است. با توجه به اینکه این بیماران از داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی نظیر گلوکوکورتیکوئیدها استفاده می‌کنند، لذا انتظار می‌رود نسبت به عفونت‌های میکروبی ناشی از پاتوژنهای فرصت طلب از جمله عفونت‌های ناشی از نوکاردیا آسیب‌پذیر باشند (۴-۵). برای تشخیص عفونت‌های نوکاردیایی نمی‌توان به تظاهرات بالینی و عکس‌های رادیولوژی تکیه کرد. بلکه روش‌های میکروب شناسی مانند رنگ آمیزی گرم، رنگ آمیزی اسید فاست و کشت، کلیدی ترین روش برای تشخیص عفونت‌های نوکاردیایی محسوب می‌شوند (۷، ۱). مطالعه حاضر گزارش موردی از عفونت نوکاردیوزیس تنفسی با تظاهرات توپ قارچی در ریه بیمار مبتلا به لوپوس اریتماتوز سیستمیک است.

روش کار

خانم ۳۴ ساله مبتلا به لوپوس اریتماتوز سیستمیک که سابقه دو عمل پیوند کلیه را داشته است، ۴ ماه پس از دومین عمل پیوند با علائم تب، کسالت، تعریق شبانه و درد قفسه سینه به بیمارستان الزهرا اصفهان مراجعه نمود. بیمار دارای تب ۴۰ درجه سانتیگراد و نتایج تست های CRP ۱۱۳ (mg/dl)، BUN ۲۱ (mg/dl)، Ceratinine ۱/۴ (mg/dl)، Na ۱۴۰ (mEq)، K ۴/۶ (mEq)، Ca ۸/۸ (mg/dl)، AST ۳/۷ (g/dl)، Alb ۱/۷ (mg/dl)، Mg ۲/۵ (mg/dl)، ALT ۱۵۰ (U/L) و ALP ۳۲۲ (U/L) بوده است. در نتایج سی تی اسکن ریه بیمار اندازه قلب نرمال، گره‌های لنفوی ریوی دچار تورم بودند و در راس لوب پایینی ریه راست بیمار توده ۵۵ میلی متری با مرکز شبیه به توپ قارچی مشاهده شد. در نتیجه عفونت قارچی تشخیص داده شد و برای بیمار داروهای قارچی



شکل ۱: رنگ آمیزی گرم



شکل ۲: کلنی مشکوک به نوکاردیا

بحث

بیماران با تظاهرات توپ قارچی در ریه به ثبت رسیده است (۱۴-۱۳). در مطالعه حاضر با استفاده از نتایج رنگ آمیزی، خصوصیات کلنی و تست‌های فنوتیپیک باکتری مورد نظر به عنوان نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس شناسایی شد و داروهای درمان عفونت‌های قارچی متوقف و کوتریموکسازول تجویز شد که در نهایت منجر به بهبودی بیمار شد.

نتیجه‌گیری

گونه‌های نوکاردیایی کند رشد هستند و در اغلب موارد تشخیص داده نمی‌شوند (۱۵). با توجه به اینکه بیماران نقص سیستم ایمنی یکی از مهم‌ترین میزبانان کسب عفونت‌های نوکاردیایی هستند (۳)، لذا ضروریست در خصوص عفونت‌های بیماران نقص سیستم ایمنی، عفونت‌های ناشی از گونه‌های نوکاردیا نیز مورد بررسی قرار گیرد.

قدردانی

مقاله حاضر حاصل پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد به شماره ۳۹۵۰۸۰ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است، نویسندگان این مقاله لازم می‌دانند که از معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی علوم پزشکی اصفهان کمال تشکر و قدردانی را به عمل آورند.

References

- Eshraghi S S, Bafghi M F, Ghafouri A, Heidarieh P, Habibnia S, Nasab M R, et al. Isolation and identification of *Nocardia asteroides* complex isolated from thigh abscess in a patient with Behçet's syndrome: the first report from Iran. *Tehran Univ Med Sci* 2013; **71**(7).
- Zaker Bostanabad S, Hashemi-Shahraki A, Heidarieh P, Sheikhi N, Sharifi A, Seyri Fouron Abad M. Characterization and isolation of *Nocardia* from clinical sample Patient suspected to active tuberculosis. *NCMBJ* 2014; **4**(13): 19-23. URL: <http://ncmbjpiu.ir/article-1-474-fa.html>.
- Ahani A, Yousefi S, Fatahi Bafghi M, Shakeri N, Norozi AR, Eshraghi S S. The first report of *Nocardia asteroides* complex from a patient with nasolacrimal obstruction duct from Iran. *Razi J Med Sci* 2016; **23**(147): 99-103.
- Prasad B S, Misra R, Agarwal V, Lawrence A, Aggarwal A. *Nocardia* infection in SLE: A case series of three patients. *Indian J Rheumatol* 2014; **9**(2): 53-56.
- Rigante D, Mazzoni M B, Esposito S. The cryptic interplay between systemic lupus erythematosus and infections. *Autoimmun Rev* 2014; **13**(2): 96-102. doi: 10.1016/j.autrev.2013.09.004
- Reich A, Marcinow K, Bialynicki-Birula R. The lupus band test in systemic lupus erythematosus patients. *Ther Clin Risk Manag* 2011; **7**: 27-32. doi: 10.2147/tcrm.s10145
- De Clerck F, Van Ryckeghem F, Depuydt P, Benoit D, Druwé P, Hugel A, et al. Dual disseminated infection with *Nocardia farcinica* and *Mucor* in a patient with systemic lupus erythematosus: a case report. *J Med Case Rep* 2014; **8**(1): 1. doi: 10.1186/1752-1947-8-376
- 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
- Lebeaux D, Morelon E, Suarez F, Lanternier F, Scemla A, Frange P, et al. *Nocardiosis* in transplant recipients. *Eur J Clin Microbiol Infect Diseases* 2014; **33**(5): 689-702. doi: 10.1007/s10096-013-2015-5
- Clark N, Reid G. *Nocardia* infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant* 2013; **13**(s4): 83-92. doi: 10.1111/ajt.12102

11. Ishibashi Y, Watanabe R, Hommura S, Koyama A, Ishikawa T, Mikami Y. Endogenous *Nocardia asteroides* endophthalmitis in a patient with systemic lupus erythematosus. *Br J Ophthalmol* 1990; **74**(7): 433-436. doi: 10.1136/bjo.74.7.433
12. ATEŞ Ö, Cilan H, Oymak S, Yildiz O, Oymak O. Multidrug-Resistant Disseminated *Nocardia Farcinica* Infection in a Systemic Lupus Erythematosus Patient. *Turk J Rheumatol* 2013; **28**(4): 56-60. doi: 10.5606/tjr.2013.2854
13. Tilak R, Agarwal D, Lahiri T, Tilak V. Pulmonary nocardiosis presenting as fungal ball--a rare entity. *J Infect Dev Ctries* 2008; **2**(02): 143-145. doi: 10.3855/jidc.287
14. Paty B P, Sarangi G, Mohanty D P, Choudhury S R, Mohapatra D, Das S S, et al. Nocardia asteroides causing pulmonary nocardiosis presenting as fungal ball. *Ann Trop Med Public Health* 2014; **7**(1): 58. doi: 10.4103/1755-6783.145026
15. Nguyen A, Patel K, Puck J, Dorsey M. Longstanding Eosinophilia in a Case of Late Diagnosis Chronic Granulomatous Disease. *J Clin Immunology* 2016; **13**: 1-3. doi: 10.1007/s10875-016-0361-7